



**Sara Isabel Sousa
Sebastião**

**Relatório sobre a tradução de artigos científicos
no domínio da biologia molecular/oncologia**



**Sara Isabel Sousa
Sebastião**

**Relatório sobre a tradução de artigos científicos
no domínio da biologia molecular/oncologia**

Relatório apresentado à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Tradução especializada realizada sob a orientação científica da Professora Dra. Maria Teresa Roberto, Professora Auxiliar do Departamento de Línguas e Culturas da Universidade de Aveiro

Dedico este relatório aos meus pais, irmã, cunhado e ao Rodrigo.

O júri

presidente

Professora Doutora Maria Teresa Murcho Alegre;
Professora Auxiliar da Universidade de Aveiro.

Professora.Doutora Maria Teresa Roberto
Professora Auxiliar da Universidade de Aveiro (Orientadora).

Professor Doutor António Carlos Matias Correia
Professor Catedrático da Universidade de Aveiro (Arguente).

Agradecimentos

Agradeço à minha orientadora, Professora Doutora Maria Teresa Roberto cuja paciência, espírito crítico, dedicação e grandeza humanas tornaram o desenvolvimento desta tese num projecto aliciante de grande reflexão e investigação ao nível da tradução técnica.

Agradeço à Professora Joana por todo o empenho e dedicação que depositou na correcção e validação terminológica das traduções pois são um elemento fundamental da minha tese.

Agradeço a todos os meus professores que fizeram parte do meu percurso académico, pois todos eles de uma forma ou de outra contribuíram para o meu desenvolvimento pessoal e profissional e me demonstraram que traduzir não é apenas transpor de uma língua para outra.

Agradeço à Biblioteca da Universidade de Aveiro por me ter facultado todo o material de consulta necessário para a elaboração desta tese.

Agradeço aos amigos, em especial à Andrea, a minha companheira de sempre que trilhou comigo as aventuras e desventuras da tradução, pela compreensão, cumplicidade e amizade.

Agradeço aos meus pais, irmã e cunhado pelo amor, carinho e apoio constante em todas as minhas decisões.

Agradeço ao Rodrigo, pela inspiração, pelo fervilhar de ideias, por acreditar em mim e principalmente pelo amor.

Aveiro, Dezembro de 2010

palavras-chave

Tradução científica, glossário de especialidade, biologia molecular, oncologia

resumo

A tradução de artigos científicos e médicos constitui um dos maiores, senão o maior desafio para os tradutores profissionais, tendo hoje em dia uma faixa representativa no mercado da tradução.

Para que as traduções neste domínio alcancem um padrão de qualidade elevado é necessário rodearmo-nos de mecanismos que nos ajudem em todo o processo tradutológico sendo essencial destacar a importância que os especialistas da área e os glossários terminológicos têm neste processo.

O cancro é hoje em dia a neoplasia malignas que mais gente afecta em todo o Mundo, sendo essa uma das razões para a escolha do tema e para desenvolver um glossário no domínio da oncologia que possa vir a servir de ferramenta de apoio a outras traduções no mesmo domínio.

keywords

Scientific translation, speciality glossary, molecular biology, oncology

abstract

Translating scientific and medical articles can be one of the more difficult, if not the biggest challenge of all for the professional translators. Nowadays scientific and medical translation, also called technical translation has a representative part in the translation market.

To obtain a high quality standard in translations of this domain it is necessary to have mechanisms that will help us during the translation process. I can highlight the importance of the terminological glossaries and the help from a professional connected to the domain.

Cancer is presently one of the malignant neoplasies that affects more people all over the world and that is one of the reasons that I have chosen this theme. The other was to develop a glossary in the oncology domain that may prove to be useful as a support tool for other translation in the same domain.

At the heart of international scientific and technical communication is translation.
(Hager 2000, xviii)

Índice

1. Introdução – Estrutura do relatório	11
2. Enquadramento do relatório	13
3. Objectivos gerais e específicos da tradução científica	15
4. Percurso de Pesquisa – Pré Tradução	17
5. Metodologia de trabalho tradutológico	19
Capítulo 1 – Fundamentação teórica da terminologia	21
1.1 O que é a terminologia?	22
1.1.1 Extracção terminológica	22
1.1.2 Princípios da pesquisa terminológica	23
1.1.3 Principais ferramentas terminológicas	24
Capítulo 2 – Fundamentação teórica da tradução	25
2.1 Tradução	26
2.1.1 A tradução de artigos científicos/médicos	28
2.2 Tradução de iniciais, abreviaturas e acrónimos	29
2.3 Conhecimento da área científica analisada	31
Capítulo 3 - A análise crítica	32
3.1 Análise crítica da tradução dos artigos científicos	33
3.3 Problemática das questões tradutológicas	35
3.2 Fundamentação teórica das escolhas terminológicas realizadas	39
Capítulo 4 - Glossário Bilingue	40
Bibliografia	56
Webgrafia	58
Anexos	60
Artigo 1 – Molecular biology and early diagnosis in lung cancer	61
Tradução – A biologia molecular e o diagnóstico precoce no cancro do pulmão	65
Artigo 2 – Molecular biology: an early detector of oral cancers	69
Tradução – Biologia molecular: um detector precoce dos cancros orais	75
Anexo 3 – The interface between molecular biology and cancer research	82
Tradução – A interface entre a biologia molecular e a investigação do cancro	88

1. Introdução – Estrutura do relatório

A ideia base deste relatório começou com um conceito muito simples, fazer a tradução de alguns artigos científicos no domínio da biologia molecular/oncologia e que a tradução contribuisse para a reflexão crítica sobre as metodologias, ajudasse a encontrar respostas para os problemas tradutológicos encontrados e a elaborar um glossário bilingue (Inglês-Português) acompanhado pela respectiva definição e fonte que pudessem contribuir como ferramenta de trabalho para posteriores traduções neste domínio.

Os artigos que foram traduzidos são 3: *Molecular biology and early diagnosis in lung cancer* (A biologia molecular e o diagnóstico precoce no cancro do pulmão), um artigo que fala sobre as técnicas recentes da biologia molecular e como estas podem ajudar no diagnóstico precoce do cancro do pulmão. *Molecular biology: an early detector of oral cancers* (A biologia molecular: um detector precoce dos cancros orais), mais uma vez a biologia molecular ajuda na detecção precoce do cancro, desta vez nos cancros orais e por último *The interface between molecular biology and cancer research* (A interface entre a biologia molecular e a investigação do cancro).

O relatório está dividido em quatro capítulos que assentam nos princípios fundamentais da análise crítica de um trabalho tradutológico. O primeiro capítulo explora a fundamentação teórica da terminologia, definindo o conceito na verdadeira acepção da palavra, o que é a terminologia? A partir deste ponto iniciamos uma análise sobre a extracção terminológica, quais os princípios da sua pesquisa e as principais ferramentas terminológicas.

No segundo capítulo, analisa-se a fundamentação teórica da tradução, onde se começa por explorar o conceito principal do que é a tradução, partindo daí para a tradução de artigos científicos/médicos, passando por uma reflexão aprofundada sobre a tradução de abreviaturas, siglas e acrónimos, pois este representa um dos maiores problemas tradutológicos. Neste capítulo há ainda espaço para falar sobre o conhecimento da área temática analisada e a necessidade de validação por um especialista da área.

O terceiro capítulo faz uma análise crítica de todo o processo tradutológico, iniciando-se pela análise da tradução dos artigos e respectiva fundamentação teórica das escolhas terminológicas que foram realizadas. Neste capítulo, aborda-se, ainda, a problematização e exposição das questões tradutológicas que foram aparecendo ao longo da tradução e que finalizam todo o processo de reflexão do trabalho tradutológico.

Do quarto e último capítulo faz parte o glossário bilingue que representa o produto final de todo o processo de extracção terminológica que foi realizado. Este glossário encontra-se em Inglês e Português, acompanhado pela respectiva definição na língua de chegada, e da fonte.

2. Enquadramento do relatório

O presente relatório assenta em alguns factores primordiais. Em primeiro lugar, baseia-se na constatação de que as áreas e subáreas do saber científico e técnico constituem um dos maiores, senão o maior desafio para os tradutores, principalmente para os tradutores que produzem documentos em português a partir de uma outra língua de partida, neste caso o inglês. Em segundo lugar, este trabalho fundamenta-se na percepção das principais dificuldades aquando da tradução de artigos científicos de inglês para português e a ausência de glossários e material de apoio apropriados, neste domínio, para o desenvolvimento dos mesmos.

Esta tarefa torna-se ainda mais complicada quando a descoberta de novos métodos de investigação a nível médico (neste caso específico estamos a falar da área da Oncologia) estão frequentemente associados à descoberta de novos termos técnicos. Nos casos de difícil tradução de um termo ou apenas devido à cada vez maior utilização da língua inglesa, frequentemente aplicada no nosso dia-a-dia, podemos deparar com a introdução do termo em inglês, em textos da língua portuguesa, acompanhado de uma pequena definição.

Em terceiro lugar este relatório decorre ainda da constatação de que a tradução de siglas e acrónimos constitui uma das grandes dificuldades na tradução de artigos científicos, existindo uma ausência de método no seu uso, sendo necessário o tradutor encontrar uma forma coerente de os decifrar e de os verter para a língua de chegada.

Este trabalho pretende contribuir para a reflexão tradutológica e para melhorar a comunicação entre as áreas de especialidade/especialização científicas e técnicas, alertando para a necessidade de cada vez maior criação de instrumentos que regularizem a tradução dos termos médicos e até mesmo das respectivas siglas, abreviações e acrónimos.

Estando a evolução do conhecimento científico associada à introdução de novos termos e conceitos, não podemos considerar os glossários sistemas fechados, mas sim sistemas que estão em constante desenvolvimento e requerem uma actualização constante, de modo a acompanharem as novas descobertas na área da medicina, mais especificamente no campo oncológico.

Como forma de resposta a estes factores, foi efectuada uma pesquisa e extracção terminológica aprofundada de três artigos científicos, no campo oncológico: *Molecular biology: an early detector of oral cancers*; *The interface between molecular biology and cancer research*; *Molecular biology and early diagnosis in lung cancer*. O objectivo era criar um glossário terminológico com alicerces não só na oncologia mas também na medicina geral, de forma a preencher algumas das lacunas que se sentem na tradução da terminologia médica. Mais do que um instrumento de ajuda, este glossário poderá tornar-se num instrumento de trabalho útil para tradutores com especialização nas áreas da saúde e ciências da vida.

3. Objectivos gerais e específicos da tradução científica

Neste processo podemos definir dois tipos de objectivos, os objectivos gerais e os objectivos específicos.

Como objectivos gerais podemos definir que este relatório de mestrado irá dotar o estudante de conhecimentos científicos avançados, explorando assim as competências tradutológicas que foram desenvolvidas no âmbito da Licenciatura em Tradução e depois aprofundadas com o Mestrado em Tradução Especializada em Saúde e Ciências da Vida.

Como objectivos específicos, este relatório visa a tradução de três artigos científicos na área da biologia molecular/oncologia, ao mesmo tempo que permite a reflexão crítica sobre as metodologias, a base teórica e as escolhas tradutológicas subjacentes à tradução, e que permitem a elaboração da respectiva base terminológica no domínio da oncologia.

4. Percurso de Pesquisa – Pré Tradução

Um dos principais factores para a escolha deste tema para a tese está directamente relacionado com a relevância do cancro nos dias de hoje. Actualmente o cancro é a neoplasia maligna que mais atinge a população mundial, sendo considerada a “doença com maior impacto económico no mundo pelas mortes e perda de produtividade, revela um relatório da Sociedade Americana do Cancro, que vai ser divulgado amanhã no Congresso Mundial do Cancro em Shenzhen, na China.”.¹

Toda a informação que possa ser disponibilizada em Português sobre este flagelo será um contributo positivo não só para o público em geral mas também para os médicos especialistas nestas áreas. Apesar dos profissionais de saúde serem, normalmente, pessoas familiarizadas a comunicar na língua inglesa, a tradução de artigos científicos para português pode ajudar os profissionais que ainda estão em formação, pessoas que não possam ter acesso pleno ao texto em inglês, tradutores e comunicadores das áreas das ciências da vida e saúde.

O projecto inicial da tese era a apresentação de um glossário terminológico que pudesse fazer face às dificuldades encontradas na tradução de artigos científicos mas como esse seria um campo muito generalizado, optou-se por escolher uma área específica da medicina, oncologia. A intenção foi fazer um levantamento terminológico dos três artigos científicos que foram traduzidos de inglês para português: *Molecular biology: an early detector of oral cancers*; *The interface between molecular biology and cancer research*; *Molecular biology and early diagnosis in lung cancer*.

A necessidade de fazer um enquadramento teórico da tese no âmbito da tradução na área da saúde e ciências levou a que as traduções tivessem que ser validadas terminologicamente por um especialista da área. Neste caso não foi possível estabelecer contacto directo com um especialista oncológico e por isso as mesmas foram validadas por uma médica da área da Neurologia do Hospital Geral do Centro Hospitalar de Coimbra.

Depois de efectuada a validação terminológica dá-se início à extracção terminológica de cada um dos textos com o objectivo final de criar um glossário bilingue (Inglês/Português) no campo oncológico.

¹http://www.publico.pt/Mundo/cancro-e-a-doenca-com-maior-impacto-economico-no-mundo_1451806, em o Jornal o Público em 17 de Agosto de 2010, consultado em 17 de Setembro de 2010.

5. Metodologia de trabalho tradutológico

A metodologia de trabalho tradutológico foi dividida em quatro partes fundamentais:

Inicialmente a fase da pré-tradução onde é efectuada uma análise dos três artigos científicos escolhidos: *Molecular biology: an early detector of oral cancers*; *The interface between molecular biology and cancer research* e *Molecular biology and early diagnosis in lung cancer*. Nesta análise inicial é feita uma leitura de cada um dos textos e detecção das primeiras dificuldades terminológicas que podem ser um obstáculo na tradução do artigo. É também importante fazer uma pesquisa terminológica noutros artigos relacionados com a área que possam funcionar como material de apoio à tradução.

A segunda parte pode ser definida pela tradução dos três artigos científicos de Inglês para Português e posterior validação terminológica dos mesmos por uma médica do Hospital de Coimbra da área da neurologia ao mesmo tempo que vai sendo feita uma extracção terminológica de cada um dos artigos.

Na terceira parte é feita uma análise crítica do processo de tradução dos artigos científicos, fundamentação teórica das escolhas terminológicas realizadas e problematização das questões tradutológicas encontradas no decorrer das traduções.

Por último, a construção de um glossário terminológico bilingue que tem como língua de partida o inglês e língua de chegada o português, acompanhado por uma definição que possa elucidar acerca do que o termo significa e ainda a fonte onde o mesmo foi encontrado.

Capítulo 1 – Fundamentação teórica da terminologia

1.1 O que é a terminologia?

O que significa a palavra terminologia? Na primeira acepção da palavra significa “um conjunto de palavras técnicas pertencentes a uma ciência, uma arte, um autor ou um grupo social”, como por exemplo e neste caso específico a terminologia que é usada nos artigos científicos/médicos.

Num sentido mais restrito e específico da palavra o termo designa uma “disciplina linguística consagrada ao estudo científico dos conceitos e termos usados nas línguas de especialidade”. Podemos então diferenciar dois tipos de linguagem, a linguagem comum ou quotidiana que é aquela que usamos no dia-a-dia e a linguagem de especialidade é a que é utilizada numa determinada área do conhecimento ou da prática com base num vocabulário específico dessa determinada área.

Podemos considerar que a terminologia compreende o trabalho da tradução especializada já que esta requer o domínio de terminologias especializadas bilingues ou multilingues. O conhecimento dos conceitos específicos e da terminologia utilizada numa determinada área de especialidade pode ser considerado um valioso trunfo a nível profissional.

1.1.1 Extracção terminológica

O trabalho de extracção terminológica exige uma série de procedimentos, tais como: identificar os termos que designam os conceitos específicos de uma determinada área, certificar a utilização dos mesmos através de referências precisas, descrevê-los de uma forma concisa mostrando qual o seu uso correcto com o objectivo de facilitar uma comunicação que esteja isenta de ambiguidades.

A gestão do conteúdo terminológico permite manter a coerência e actualidade dos termos de especialidade assim como permite seleccionar certos tipos de dados como por exemplo classe gramatical, género, número, etc. e oferecer um produto terminológico que pode incluir desde glossários bilingues a dicionários.

A extracção terminológica tem um papel bastante importante na tradução de textos de especialidade. Para além das ajudas que podemos encontrar em glossários e bases de dados online, é também bastante útil a compilação e administração de terminologia ao longo dos anos para que esta possa ser usada por outras pessoas.

Nos artigos científicos escolhidos a densidade terminológica representa um dos problemas para a tradução. Esta densidade terminológica, característica da tradução técnica é também o que sustenta todo o trabalho terminológico e tradutológico efectuado. Quando existe esta densidade terminológica, o trabalho de extracção terminológica torna-se essencial e imprescindível para a criação de um glossário de termos que possam ajudar na compreensão dos textos e em posteriores traduções de textos relacionados com a área da oncologia, para além de serem basilares na harmonização das traduções a efectuar.

1.1.2 Princípios da pesquisa terminológica

O princípio fundamental da terminologia é a pertinência dos termos nas áreas temáticas. Cada especialidade apresenta uma área temática na qual deverá estar evidente uma pesquisa terminológica coerente, para que exista um sistema de classificação no qual foi efectuada a pesquisa terminológica.

As disciplinas conexas e as tecnologias convergentes podem partilhar conceitos e termos. Por vezes, o mesmo conceito pode receber designações diferentes, consoante a área em que este se insere. Por vezes, também, o mesmo termo pode referenciar, conceptualmente, conhecimento de dois ou mais domínios. É por isso que é necessário indicar a área de especialidade para que não exista dúvida quanto à relação de termos com os respectivos conceitos. Neste caso da tradução de artigos na área da oncologia, como é uma área com um domínio bastante específico, dificilmente irão aparecer termos ou conceitos nos quais existam qualquer tipo de ambiguidade ou de confusão terminológica.

A pesquisa terminológica pressupõe, inicialmente, identificar os termos que comunicam conhecimentos especializados. Sendo assim, a sua função principal é transmitir os conhecimentos especializados, ao mesmo tempo que é validado o seu uso terminológico. Para isso é necessário que os dados que pomos à disposição para utilização de outros tradutores e de mais utentes de material desta índole sejam coerentes, actualizados e cumpram com a qualidade exigida.

Neste trabalho de pesquisa terminológica, foi essencial a leitura de outros textos paralelos, realizar bases de dados separadamente para cada artigo e fazer a junção de todos os termos em apenas uma base comum. Isto permitiu evitar a repetição de termos e verificar quais eram os termos essenciais para a construção de um glossário terminológico no domínio da oncologia, que fosse pertinente para a tradução de outros textos neste domínio.

1.1.3 Principais ferramentas terminológicas

Nos últimos anos o computador em conjunto com a internet tornou-se numa das principais ferramentas de acesso a conhecimentos especializados e o meio mais utilizado para transmitir e administrar qualquer que tipo de informação.

Toda a extracção terminológica de um determinado tipo de texto, desde a identificação dos termos até à obtenção de um produto final, pode ser feita manualmente.

Existem diferentes programas para a gestão terminológica que diferem na complexidade das entradas, número de línguas permitindo assim a possibilidade de criar uma estrutura personalizada.

A recolha de termos manual pressupõe a leitura minuciosa tanto do texto de partida como do texto de chegada assim como a anotação de seleccionados após a consulta de um especialista da área.

Neste caso específico foi realizada uma extracção terminológica individual de cada artigo científico e todos os termos foram inseridos numa base de dados organizada alfabeticamente no Excel. Os termos para além de estarem organizados alfabeticamente estão também em duas línguas, na língua de partida Inglês e na língua de chegada Português. Depois de realizada a extracção terminológica de cada um dos artigos é feita a junção em apenas uma base de dados de todos os termos eliminando as repetições existentes.

Ao delimitar as unidades terminológicas identificadas durante a leitura, podemos também encontrar fragmentos de texto que ofereçam informação acerca das definições de cada termo. No caso da extracção terminológica que foi realizada todas as definições foram retiradas da internet. A maioria são definições exactas dos termos outras são extractos de texto de outros artigos científicos que permitem uma percepção do que o termo significa.

Capítulo 2 – Fundamentação teórica da tradução

2.1 Tradução

O termo tradução tem sido alvo das mais diversas definições. Lina Gameiro Lopes, tradutora considera a tradução como:

a transposição de uma mensagem escrita numa determinada língua (língua de partida) para uma outra línguas (língua(s) de chegada), obedecendo a determinadas regras linguísticas e extralinguísticas, que podem ser diferentes dependendo de cada época e da sensibilidade e conhecimento dos tradutores.

Podemos depreender então, que cada tradutor poderá ter uma ideia diferente do que é traduzir ou do que significa a tradução. Mas para quem pensa que o termo tradução é um termo recente engana-se. Já no ano de 1959, o linguista Roman Jakobson fazia a divisão em três tipos de tradução: a tradução intralinguística («*rewording*»), a tradução interlinguística («*translation proper*») e a tradução intersemiótica («*transmutation*»).

Em 1972, James S. Holmes, fazia uma abordagem da tradução de uma forma diferente. James Holmes considerou a tradução como um “fenómeno», indecomponível, de processo – a acção de traduzir – e de produto(s) – o(s) texto(s) traduzido(s) –, inseridos num contexto de chegada”. Esta concepção de tradução centrou-se na concepção interlinguística de tradução de Roman Jakobson (Holmes, 1994).

A diversidade e pluralidade do conceito de tradução foi chamada à atenção por Roberto Mayoral Asensio, que no ano de 2001 deu à tradução uma designação aberta, sendo ela:

Traducción: *a)* proceso comunicativo entre dos o más sistemas A y B (sistemas lingüísticos, culturales, semióticos, mediáticos, logográficos, etc.) diferentes en el que el mensaje B se deriva del mensaje A de alguna forma (mediante identidad, equivalencia, evocación, inspiración, alusión, referencia, comentario, resumen, paráfrasis, narración, fragmentación, adaptación, redacción, etc.), pudiendo el objetivo de la comunicación en ambos sistemas A y B ser diferente o idéntico; *b)* el resultado o producto del proceso anterior; *c)* el proceso mental seguido por la persona o el proceso seguido por la máquina que traducen. (Mayoral Asensio, 2001, p.358).

Já mais recentemente. Em 2004, Basil Hatim e Jeremy Munday decompunham o termo tradução em três pontos:

1. The process of transferring a written text from SL to TL, conducted by a translator, or translators, in a specific socio-cultural context.
2. The written product, or TT, which results from that process and which functions in the socio-cultural context of the TL
3. The cognitive, linguistic, visual, cultural and ideological phenomena, which are an integral part of 1 and 2. (Hatim e Munday, 2004, p.6).

A tradução, no meu entender deverá ser considerada totalmente necessária, pois permite ao leitor entender qualquer artigo, livro, até uma simples receita de culinária que esteja numa língua que não é a sua, mas como se da sua se tratasse produzindo as mesmas emoções e acesso ao conhecimento.

2.1.1 A tradução de artigos científicos/médicos

A maneira como os atributos científico e técnico são interpretados, quando relacionados com a tradução, é bastante variada. Jenny Williams e Andrew Chesterman consideraram tradução técnica como “a tradução de diferentes tipos de textos especializados sobre ciências e tecnologias e sobre outras disciplinas como a Economia e a Medicina”. Já Amparo Hurtado Albir define a tradução técnica de outros tipos de tradução, como “a tradução jurídica, a tradução económica, a tradução literária ou a tradução de publicidade” (A. Hurtado Albir, 2001).

De uma outra perspectiva, Carlos Castilho Pais escreve que “a tradução dita ‘técnica’ não existe, assim como não existe a tradução dita ‘literária’. Existem sim textos traduzidos, que ostentam naturezas e funções diversas, que mostram teórica e praticamente um modo específico de traduzir” (Pais, 1999). Página

Em Portugal, a literatura científica existente na Língua Portuguesa é, de um modo geral escassa estando a maioria das traduções disponíveis apenas em Português do Brasil. Ao longo da formação científica de nível superior o contacto com a língua inglesa torna-se obrigatório e a sua compreensão essencial. Esta obrigatoriedade do envolvimento com a língua inglesa já não se deve apenas ao facto de esta ser considerada uma língua universal mas também devido à facilidade de acesso a artigos científicos nesta mesma língua.

A tradução de termos científico-médicos do inglês para o português é considerada uma tarefa complicada não só para os alunos aquando da elaboração de um artigo mas também para professores porque se deparam com a dificuldade de encontrar glossários ou os mecanismos apropriados de suporte à tradução nesta área de especialidade. Esta tarefa complica-se ainda mais quando a descoberta de novos métodos, processos ou mecanismos está estreitamente interligada com a introdução constante de novos termos.

2.2 Tradução de iniciais, abreviaturas e acrónimos

Os termos iniciais, abreviaturas e acrónimos necessitam ser clarificados. É do conhecimento comum que uma inicial é a primeira letra de uma palavra, por exemplo ACE – Antigénio Carcinoembrionário. Tal como refere na Infopédia² “em geral, forma encurtada ou contraída de uma palavra; forma encurtada ou contraída de uma palavra, constituída por uma ou mais letras (geralmente iniciais) dessa palavra, seguidas de um ponto, e que se pronuncia como se estivesse por extenso; resumo” .

Uma abreviação pode ser as iniciais de uma série de palavras como por exemplo R&D Research and Development, ou uma parte de uma palavra ou palavras como por exemplo BC-NET que significa Business Company match-makers NETwork, a European Union (EU) network.

De acordo com o dicionário Merriam-Webster, um acrónimo é uma palavra composta que deriva de iniciais de uma série de palavras ou partes de um termo composto que dá origem a um novo termo, como por exemplo maser, microwave or molecular amplification by stimulated emission of radiation. A Infopédia³ refere um acrónimo como “sequência formada pelas letras ou sílabas iniciais de várias outras palavras, e que não se pronuncia letra a letra, mas sim como uma palavra corrente”.

Para que a tradução das iniciais, abreviações e acrónimos seja bem feita deverá existir um método e forma coerente de decifrar cada um destes casos. É importante para o tradutor que seja definido este método para que as dificuldades com que normalmente se deparam sejam facilmente ultrapassadas. Uma série de questões aparece aquando da tradução: Será que o tradutor terá que saber o que significa cada inicial/abreviação para que a possa traduzir ou será que pode ser deixada na sua língua de partida acompanhada por uma explicação entre parêntesis?

Por vezes algumas das siglas não aparecem descodificadas ao longo do texto o que pode dificultar a tradução das mesmas, mas porém neste tipo de textos o autor assume que não é necessário descodificar a inicial, porque o público-alvo do artigo irá compreender exactamente do que se está a falar.

Se o tradutor conseguir utilizar um método para a coerência das iniciais, a sua tradução não será tão confusa como parece. No entanto o tradutor irá deparar-se com textos nos quais as iniciais falham no acompanhamento de uma versão inteira ou até mesmo de uma pequena explicação. Se a inicial for analisada e inserida num contexto e for considerada morfológicamente e semanticamente, muitas das questões serão desvendadas. Existem termos que continuam a resistir à tradução devido à sua força e status através dos anos, alguns desse termos são bastante comuns no Inglês e irão aparecer em textos em Português na sua forma original.

² <http://www.infopedia.pt/lingua-portuguesa/abreviatura> Consultado a 22 de Outubro de 2010.

³ <http://www.infopedia.pt/lingua-portuguesa/acr%C3%B3nimo> Consultado a 22 de Outubro de 2010.

Inglês	Português
ACTH	Hormona adrenocorticotrópica (A inicial mantêm-se igual para Português);
CA	Área citoplasmática (Existe correspondente para a inicial em português – AC);
CEA	Antigénio Carcinoembrionário (Existe correspondente para a inicial em Português - ACE);
CISH	Hibridação in situ de cromossomas (Em português mantêm-se a inicial igual ao Inglês);
COPD	Doença pulmonar obstrutiva crónica (Existe correspondente para a inicial em português - DPCO);
DNA	ADN (Existe correspondente para a inicial em Português, apesar de também se usar a sigla em Inglês em textos de carácter científico);
HBV	Vírus da Hepatite B (Existe correspondente para a inicial em Português – VHB, mas utiliza-se mais a inicial em inglês);
hnRNA	Rbonucleoproteína heterogénea nuclear (não existe inicial em Português)
HNSCC	Carcinoma de células escamosas da cabeça e pescoço (Existe correspondente para a inicial em Português);
HPV	Vírus do papiloma humano (Existe correspondente para a inicial em Português – VPH – mas também se utiliza mais a inicial em inglês);
hTERT	Transcriptase reversa da telomerase (não existe inicial em Português);
hTR	RNA nuclear da telomerase (não existe inicial em Português);
IHQ	Imunohistoquímica (Existe correspondente para a inicial em Português - IHC);
LOH	Perda de heterozigotia (Em português mantêm-se a inicial em inglês);
NA	Área nuclear (Existe correspondente para a inicial em Português - AN);
NCI	National Cancer Institute (Existe apenas tradução para o Português do Brasil – INC – por isso opta-se por manter a inicial em Inglês);
NSCLC	Cancro do pulmão de não-pequenas células (Existe correspondente para a inicial em português - CPNPC);
PCR -	Reacção em cadeia da polimerase (Mantêm-se a inicial do Inglês);
PSA	Teste do antígeno prostático (Mantêm-se a inicial do inglês);
RNA	Ácido ribonucleico (Existe correspondente para a inicial em português - ARN);
SLCLC	Carcinoma pulmonar de pequenas células (Existe correspondente para a inicial em Português - CPPC)

2.3 Conhecimento da área científica analisada

Com o objectivo de efectuar uma pesquisa terminológica de qualidade, o tradutor, enquanto terminógrafo, deverá procurar desenvolver um conhecimento aprofundado e constantemente actualizado, na área específica na qual se está a efectuar a extracção terminológica. Estes conhecimentos irão permitir que na hora de efectuar a extracção terminológica, a terminologia fundamental seja fácil de identificar.

Visto que a área em que o Mestrado de Tradução se especializa é em Saúde e Ciências da Vida é natural que por esta altura o aluno esteja dotado de conhecimentos científicos avançados e de metodologias de trabalho adequadas ao desenvolvimento da tradução nesta área específica.

Contudo, apesar do conhecimento avançado que o aluno tenha adquirido nesta área de especialização será sempre necessária a validação terminológica por parte de um profissional que trabalhe directamente na área da saúde pois ele irá ajudar na precisão terminológica e qualidade do glossário elaborado.

Para realizar este trabalho terminológico é também necessário um excelente conhecimento do da língua de partida e da língua de chegada assim como das regras gramaticais e léxico da área de especialização respeitando os critérios de garantia de qualidade.

A análise dos textos traduzidos na língua de chegada é essencial para que se compreendam e descrevam os conceitos designados pelas unidades terminológicas. Os conhecimentos adquiridos numa dada área de especialidade, neste caso a Oncologia, estruturam as relações entre conceito genérico e conceito específico.

Capítulo 3 - A análise crítica

3.1 Análise crítica da tradução dos artigos científicos

O primeiro artigo seleccionado é um artigo publicado para a editora de literatura médica e científica *Elsevier, Molecular biology and early diagnosis in Lung Cancer*, (A biologia molecular e o diagnóstico precoce no cancro do pulmão) escrito por Paul A. Bunn no ano de 2002. É um artigo constituído por quatro páginas, que tem como língua de partida o Inglês e língua de chegada o Português.

Este artigo assim como todos os artigos de carácter científico, apresenta um layout específico deste tipo de textos, onde a formatação dos textos é feita em colunas, sempre acompanhada pelo nome do seu autor e respectivas palavras-chave.

Tal como o próprio título indica, o artigo refere-se à problemática do cancro do pulmão, métodos utilizados para a sua detecção e como a biologia molecular através da descoberta de novos marcadores potenciais pode ajudar na detecção precoce do cancro. O texto apresenta um carácter científico, com um léxico técnico específico desta área que apenas é compreendido na sua totalidade por profissionais que estejam directamente ligados a esta área. Por serem apenas compreendidos por profissionais que estejam relacionados com a área, é necessário que haja uma validação terminológica por parte de um especialista que esteja completamente familiarizado com o léxico.

Para além da ajuda de uma especialista na área é também necessário utilizar outros recursos que nos possam ajudar a obter uma tradução coerente e com qualidade. A leitura de outros textos em paralelo relacionados com a área de trabalho e glossários médicos podem ser considerados uma das ferramentas fundamentais ao longo de todo o processo tradutológico.

Durante a pesquisa por ferramentas que pudessem ajudar na tradução deste artigo encontrei um dicionário trilingue - Inglês/Espanhol/Português (Glossário de trilingue de termos, abreviações e acrónimos usados com frequência em Imunologia 1ª Parte)⁴ que se provou bastante útil na tradução de alguns termos e acrónimos que aparecem ao longo do texto.

O segundo artigo seleccionado é um artigo publicado mais uma vez para a editora de literatura médica e científica *Elsevier, Molecular biology: an early detector of oral cancers*, (Biologia Molecular: um detector precoce dos cancros orais), escrito por V.R. Jigna em 2009. É um artigo constituído por 6 páginas, que tem como língua de partida o Inglês e como língua de chegada o Português.

⁴ http://www.ait.pt/pdf/bibliografia/glossario_imunologia.pdf, consultado a 17 de Junho de 2010.

Este artigo está inteiramente relacionado com a problemática do cancro oral e como a biologia molecular pode ajudar na detecção precoce dos mesmos. Este artigo fala principalmente da problemática que existe para a detecção deste tipo de cancro nos países em desenvolvimento como o caso da Índia e os elevados custos de tratamento que existem até ao momento. É essencial encontrar ferramentas com uma relação custo-eficácia favorável, principalmente para os cidadãos que pertencem a estratos sociais mais baixos.

O terceiro artigo seleccionado pertence também à editora de literatura médica e científica Elsevier, *The interface between molecular biology and cancer research* (A interface entre a biologia molecular e a investigação do cancro), escrito por John Cairns em 2000. É um artigo constituído por 6 páginas que tem como nos outros, língua de partida o inglês e língua de chegada o Português.

Este artigo relata como a investigação no cancro tem sido importante para os biólogos moleculares, nomeadamente descobertas relacionadas com as células cancerígenas. A biologia molecular está prestes a revolucionar a problemática do cancro devido a descobertas no campo da gestão e controlo do cancro.

Tal como os artigos referidos anteriormente, todos eles apresentam a mesma estrutura em colunas, a mesma densidade terminológica que representa um dos maiores desafios em todo o processo terminológico. É importante consultar outros artigos em paralelo tanto na língua de partida como de chegada, pesquisar glossários relacionados com o domínio da biologia molecular e oncologia.

Para que o produto final seja de qualidade é de primordial importância que o tradutor tenha um bom domínio tanto da língua de partida neste caso o inglês, como da língua de chegada, o português para que possam ser evitados possíveis erros de construção frásica e de sintaxe. Por muito bem informado que o tradutor seja, no domínio em que esteja a traduzir, se não tiver competências linguísticas avançadas e segurança na reconstituição dos conteúdos na língua de chegada, o texto de chegada será, provavelmente, deficitário. As competências textuais e estratégicas também são de importância central para o tradutor, pois é necessário ter também presente as regras utilizadas para redigir um artigo científico, assim como a estrutura e organização do mesmo.

3.3 Problematização das questões tradutológicas

Todos os três artigos que foram traduzidos apresentam problemas em comum devido ao facto do tipo de texto e terminologia ser exactamente no mesmo domínio: artigos científicos/médicos da área da biologia molecular e oncologia.

Podemos desde logo afirmar que existem dois problemas fundamentais que ocorrem em cada um dos três textos: a elevada densidade terminológica de cada um dos artigos e a necessidade de coesão e coerência entre os mesmos devido ao facto de existirem termos em comum, que podem suscitar uma resposta tradutológica diferente quando, na verdade, devem ter a mesma.

Para resolver alguns destes problemas terminológicos foi necessário contar com a ajuda de alguém que pudesse validar terminologicamente os artigos e o glossário no domínio da oncologia. É fundamental ressaltar que esta validação por parte de um especialista ajuda bastante não só nos problemas terminológicos que possam aparecer mas também contribui para a coerência e coesão do glossário terminológico no domínio da biologia molecular e oncologia.

Falar sobre a problematização das questões tradutológicas permite sempre fazer uma análise e reflexão de todo o trabalho que foi feito até ao momento. É importante saber explicar o porquê do problema e essencialmente apresentar soluções para o mesmo. Devido à densidade terminológica que os textos apresentam vou apenas apresentar algumas das dificuldades tradutológicas que foram aparecendo ao longo da tradução dos três artigos.

Artigo 1- *Molecular biology and early diagnosis in lung cancer*. Tal como já foi referido anteriormente este artigo fala sobre a biologia molecular e como esta pode ajudar no diagnóstico precoce do cancro do pulmão.

- Antigen – Antigénio

Este termo ao realizarmos uma pesquisa no Google aparece sob duas formas em português, antigénio ou antígeno. Por exemplo a infopédia fala em antígeno mas tem um link que remete para antigénio (<http://www.infopedia.pt/diciope.jsp?Entrada=antig%E9nio&dicio=15&op=DefExpoente> - consultado a 17 de Setembro de 2010).

- Chemo-prevention - Quimioprofilaxia

Esta palavra suscitou algumas dificuldades porque a palavra em inglês traduzida literalmente era *químio-prevenção*, mas ao pesquisarmos em textos paralelos relacionados com o domínio da oncologia podemos encontrar a palavra quimioprofilaxia. A palavra quimioprofilaxia, é uma palavra composta que significa *profilaxia - s. f. Med. Conjunto das precauções higiénicas que devem tomar-se para evitar uma doença ou um contágio* e a palavra *químio* significa algo que é feito através de medicamentos.

Ao longo da tradução dos artigos, a tradução das iniciais representam outro dos problemas que é comum aos três artigos. No caso do primeiro artigo, apresento de seguida as que representaram um desafio a nível tradutológico.

- Human telomerase RNA (hTR) – RNA nuclear da telomerase

Foi bastante difícil encontrar uma tradução que se pudesse ajustar ao termo que vinha do inglês, sem que o mesmo perdesse o seu sentido. Em muitos dos artigos paralelos não existia tradução para o português do termo, optavam por manter o termo em inglês em itálico por vezes acompanhado de uma pequena explicação entre parêntesis.

- Human telomerase reverse transcriptase (hTERT) – Transcriptase reversa da telomerase

O mesmo acontece com este termo que quando pesquisado apenas aparecia em textos paralelos sempre em inglês e em itálico sempre acompanhado por uma pequena explicação em português, explicação essa que para quem não é da área é difícil de entender.

Nestes dois termos especificamente foi necessária a ajuda de uma pessoa relacionada com a área que pudesse validar os termos e foi uma sugestão de tradução feita pelo validador de toda a terminologia presente no glossário.

Artigo 2 - *Molecular biology: an early detector of oral cancers*. Este artigo explora a problemática do cancro oral e como a biologia molecular pode funcionar como um detector precoce na descoberta do mesmo. Quanto às dificuldades terminológicas sentidas aquando da tradução deste artigo são basicamente as mesmas que no artigo anterior, devido ao facto do domínio ser exactamente o mesmo.

Os termos que refiro de seguida foram os que me causaram mais problemas tradutológicos e para os quais foi mais difícil apresentar uma solução que fosse viável em português e que não retirasse o seu sentido original.

- Gene therapy – Terapia génica

Este termo apresentou algumas dificuldades aquando da sua tradução porque quando nos deparamos com ele pela primeira vez pensamos imediatamente em terapia relacionada com os genes. Ao pensarmos em terapia relacionada com os genes pensamos inicialmente em terapia genética, mas pesquisarmos em textos paralelos o termo que é realmente utilizado é terapia genica em vez de genética. A consistência quanto a este termo é um pouco dúbia devido ao facto de alguns textos paralelos relacionados com o domínio da oncologia utilizarem terapia genética em vez de genica.

- Cytomorphometry – Citomorfometria

Este termo gerou muitas dificuldades de tradução devido ao facto de ser semelhante a outro termo que aparece constantemente no artigo, *cytometry* (citometria). Houve muita dificuldade em encontrar textos paralelos em português de Portugal que pudessem servir como suporte para a tradução do termo porque apenas eram apresentadas soluções quando a pesquisa era feita em português do Brasil. O termo citomorfometria refere-se a uma técnica quantitativa que serve para avaliar parâmetros tais como a área nuclear, a área citoplasmática e a relação entre estas duas áreas. Mais uma vez foi essencial para resolver este problema, a validação terminológica por um especialista da área. O facto de não existirem muitos textos paralelos de português de Portugal que utilizem o termo, deve-se à pouca utilização desta técnica em Portugal.

Artigo 3 - *The interface between molecular biology and cancer research*. Este artigo fala como as técnicas utilizadas pela biologia molecular tem sido importante na investigação das células cancerígenas.

Este artigo de entre os três foi o que suscitou menos problemas tradutológicos, não só por ter sido o último artigo a ser traduzido sendo por esta altura o domínio da terminologia oncológica mais extenso mas também porque apresenta menos densidade terminológica que os artigos anteriores e ser um artigo com um carácter mais generalizado sobre a problemática do cancro.

- Fungal antibiotics - Antifúngicos

Este termo suscitou algumas dúvidas a nível terminológico porque poderia ser traduzido por antibiótico antifúngico, mas a palavra antifúngico já designa por si só que é algo que inibe, previne ou destrói algo, neste caso os fungos. Neste caso é mais correcto utilizar apenas a palavra antifúngico.

- RNA splicing – Splicing de ARN

Para este termo não se encontrou uma tradução possível e com a qual o termo não perdesse o seu significado original. Optou-se por manter o termo “splicing” em inglês e em itálico já que em textos paralelos é assim que ele aparece e o termo RNA foi traduzido por ARN já que esta inicial tinha um correspondente em português.

- HBV – Vírus da hepatite B

No caso desta inicial apesar de existir uma tradução correspondente tal como já foi apresentada acima quando se fala sobre as abreviações, acrónimos e iniciais, optou-se por manter a inicial exactamente igual em inglês porque em textos paralelos opta-se por manter o termo em inglês.

- HPV – Vírus do papiloma humano

Tal como vimos na inicial anterior, este caso é exactamente igual. Apesar de existir uma tradução para o termo em Português, opta-se por manter a inicial exactamente igual tal como no texto de partida visto que a sua utilização é maior e mais utilizada em textos paralelos.

3.2 Fundamentação teórica das escolhas terminológicas realizadas

Todas as minhas escolhas terminológicas são feitas com base em pesquisas realizadas em artigos de referência, paralelos, Internet e glossários de especialidade. Toda a documentação que foi pesquisada contribuiu para a reflexão e análise de todo o processo tradutológico e também para a solução dos problemas terminológicos que foram aparecendo, ao longo das traduções.

Visto que este relatório foca a importância da existência de um glossário no domínio da oncologia, que apresente coerência, coesão, que esteja bem estruturado e acompanhado pela respectiva definição e fonte, é fundamental a consulta de outros glossários que sejam do mesmo domínio ou até mesmo de domínios diferentes para ver como estes se organizam e de como é feita a selecção terminológica.

No seguimento da selecção terminológica, a validação por parte de um especialista da área é extremamente importante. Para além de ser um olhar especializado, tanto no domínio como na sua posição de utilizador de artigos científicos sobre as traduções é maioritariamente ele que pode ajudar a solucionar as questões mais científicas dos problemas tradutológicos. Aquando da dúvida entre dois termos, é o validador que pode optar por um e não por outro, sempre que apresente uma justificação plausível e que reconheça que, naquele caso específico, é esse o termo que mais se adequa à tradução.

Foi importante a consulta do Manual Merck⁵ que funciona como uma biblioteca médica online, que abrange as mais diversas áreas da medicina e que se provou bastante útil na ajuda da harmonização terminológica; assim como de artigos de referência relacionados com o mesmo domínio que podem ser encontrados no Google académico:

Artigo sobre o cancro do pulmão:

http://www.scielo.oces.mctes.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0873-21592007000400005&lng=pt&nrm=iso - consultado a 14 de Dezembro de 2010;

http://www.scielo.oces.mctes.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0873-21592009000400001&lng=pt&nrm=iso - consultado em 14 de Dezembro de 2010;

Artigo sobre o cancro oral:

<http://www.journals.elsevierhealth.com/periodicals/ejep/article/PIIS1877068110000416/abstract> - consultado em 25 de Maio de 2010;

Artigo sobre cancros de cabeça e pescoço e pulmão, brônquios e traqueia:

<https://estudogeral.sib.uc.pt/jspui/handle/10316/13511> - consultado a 25 de Maio de 2010;

⁵ <http://www.manualmerck.net/> Consultado diversas vezes ao longo de todo o relatório.

Capítulo 4 - Glossário Bilingue

Um glossário segundo a definição de Aurélio Buarque de Holanda Ferreira, do latim, é um «dicionário de termos técnicos, poéticos, científicos, etc.» é formado por verbetes organizados em ordem alfabética. Os verbetes, ainda segundo a definição deste grande dicionarista brasileiro, são “na organização dum dicionário, glossário ou enciclopédia, conjunto das acepções e exemplos respeitantes a um vocábulo” (Ferreira, 1986).data

A parte mais complicada de elaborar um glossário é o estabelecimento de um corpus que seja dotado de coerência e coesão porque é isso que estabelece a qualidade de um bom glossário técnico. É necessário definir o que é essencial e acessório, porque quando iniciamos a pesquisa terminológica dos termos passamos muito tempo a definir quais os critérios para inclusão ou exclusão dos mesmos.

É uma necessidade constante dar continuidade à criação de glossários com uma estrutura completa (por estrutura completa entenda-se acompanhado da definição de termo e a fonte) para que exista uma regulamentação dos termos, que é um dos problemas actuais aquando da investigação em terminologia da área científica.

A qualidade do glossário final depende da pertinência de cada termo e se este está inserido no local correcto, da definição e fonte pelo qual é acompanhado.

Glossário ⁶

[Link para as fontes](#) ⁷

Inglês	Português	Definição/Contexto
Abberant methylation	Metilação aberrante	A metilação aberrante do ADN ocorre frequentemente nos tumores malignos humanos, sob a forma de hipometilação difusa do genoma e hipermetilação focal.
ACTH (Adrenocorticotrophic hormone)	ACTH (Hormona adrenocorticotrópica)	Que estimula a actividade hormonal do córtex supra-renal.
Adenocarcinoma	Adenocarcinoma	Cancro de origem glandular que afecta, entre outros, mama, o estômago e o intestino.
Allel	Alelo	<i>Cada uma das cópias de cada par de genes do indivíduo. Nas pessoas com VHL uma dessas cópias está alterada e a outra tem a sequência normal.</i>
Alpha feto-protein	Alfa-fetoproteína	<i>Um marcador tumoral que pode ser doseado no sangue. Dependendo dos valores encontrados, o médico do paciente avaliará quais as situações clínicas que poderiam ser responsáveis pelos níveis alterados.</i>
Angiogenesis	Angiogénese	Processo de crescimento extensivo e ramificado de pequenos capilares sanguíneos, cujas paredes consistem em apenas uma camada de células endoteliais. No caso dos tumores, este crescimento é anormal, formando-se vasos estruturalmente desorganizados, tortuosos, dilatados e esvaziantes.
Anueploid lesion	Lesão aneuploide	<i>Lesões aneuplóides têm tendência a corresponder a células menos diferenciadas (Nenning et al., 1997). As neoplasias multiplóides de ADN estão associadas a comportamento biológico mais agressivo em alguns tipos de tumores (Lorenzato et al., 2000; Subdo et al., 2001). A detecção de células aneuplóides >5c e >9c é importante por poderem ser marcadores de instabilidade e agressividade das neoplasias de tecidos onde não se dá o fenómeno de poliploidia fisiológica.</i>

⁶ Devido ao facto de ser por vezes impossível encontrar uma definição exacta para os termos, em alguns dos casos foram retirados contextos nos quais pudesse ser perceptível o que significa o termo. Para fazer uma distinção entre eles, os contextos encontram-se em itálico.

⁷ Devido a questões de formatação as fontes não estão presentes neste documento mas são possíveis ver através deste link.

Aquamous cell carcinoma	Carcinoma de célula escamosa	O carcinoma de células escamosas é um cancro que se origina na camada intermédia da epiderme. O carcinoma de células escamosas costuma desenvolver-se em zonas da pele expostas ao sol, mas também o pode fazer em qualquer outra parte do corpo, como a língua ou a mucosa bucal.
Atypia	Atipia	Irregularidade no aparecimento de certas doenças periódicas.
Automated sputum cytology	Citologia da expectoração automatizada	Análise citológica da células presentes na expectoração.
Biochemistry	Bioquímica	Ciência que estuda os processos químicos que ocorrem nos organismos vivos. Trata da estrutura e função metabólica de componentes celulares como proteínas, carboidratos, lipídios, ácidos nucleicos e outras biomoléculas.
Biomarker	Biomarcador	<i>Uma característica molecular, biológica ou física que indica um estado fisiológico específico. É objectivamente mensurável e pode ser utilizado na prática clínica para identificar o risco para uma doença, para diagnosticar uma doença e a sua gravidade, para guiar estratégias de intervenção ou para monitorizar a resposta de doentes a terapêuticas.</i>
Bronchial biopsy	Biopsia brônquica	Processo de obtenção de tecido pulmonar, que pode ser realizada por várias técnicas, pode ser diagnóstica ou sugestiva de malignidade. Por vezes é insuficientemente específica para orientar uma terapêutica. As pequenas biópsias obtidas por broncofibroscopia por vezes tornam difícil a classificação exacta de certas neoplasias, como o carcinoma broncogénico de células mistas, tumores metastáticos e tumores de histologia rara.
Bronchial mucosa	Mucosa brônquica	<i>O interior da traqueia é revestido por uma mucosa similar a que cobre a parede interna das restantes vias respiratórias, formada por um epitélio composto por células ciliadas e células caliciformes produtoras de muco.</i>
Cancer	Cancro	A palavra cancro é utilizada genericamente para identificar um vasto conjunto de doenças que são os tumores malignos. Os tumores malignos são muito diversos, havendo causas, formas de evolução e tratamentos diferentes para cada tipo. Há, porém, uma característica comum a todos eles: a divisão e o crescimento descontrolado das células.

Cancer cell	Célula cancerígena	<i>Em circunstâncias normais, as células não podem crescer nem formar grandes massas incontroladas, porque diversos mecanismos reguladores o impedem. Inversamente, a célula cancerígena desenvolve formas de vencer esses mecanismos, adquirindo propriedades invasivas, sendo capaz de: iludir o envelhecimento, resistir à apoptose, estimular a angiogénese, propagar-se mediante metástases.</i>
Carcinoembryonic antigen (CEA)	Antígeno carcinoembrionário (ACE)	Antígeno tumoral que se encontra no sangue das pessoas com cancro do cólon, da mama, do pâncreas, da bexiga, do ovário e do colo do útero. Elevadas quantidades deste antígeno também podem ser detectadas nos grandes fumadores e nas pessoas que sofrem de cirrose hepática ou colite ulcerosa. Portanto, a presença de uma grande quantidade de antígenos carcinoembrionários significa a existência de cancro.
Carcinogenesis	Carcinogénese	Processo que designa a génese do cancro e que geralmente ocorre por etapas sequenciais de activação de oncogenes e inactivação de genes oncosuppressores ao longo de vários meses-anos de cancro.
Carcinogenic	Carcinogénico	Composto que provoca cancro.
Carcinogenicity	Carcinogenicidade	Processo com vários passos e vários mecanismos envolvendo eventos genotóxicos (mutações), alteração na expressão de genes a nível transcripcional, translacional e pos-translacional (eventos epigenéticos) e alteração da sobrevivência das células (proliferação e apoptose). O processo carcinogénico é frequentemente dividido em três passos: iniciação, promoção e progressão.
Carcinoma	Carcinoma	<i>Variedade de tumor maligno com tendência para atingir os tecidos próximos.</i>
Chemoprevention	Quimioprevenção	Administração profiláctica de medicamentos.
Chemotherapy	Quimioterapia	Tratamento com substâncias químicas que têm como objectivo um efeito inibidor sobre o crescimento das células cancerosas no organismo. Regra geral, o termo aplica-se à quimioterapia por meio de citostáticos, ou seja, ao combate de células anormais através do uso de fármacos inibidores da divisão celular (citostáticos).

Chest X-ray	Raio-X torácico	A radiografia do tórax (microradiografia dos pulmões) é um exame complementar de diagnóstico. É “complementar” tal como o indica a sua denominação ou seja deve ser interpretado no contexto clínico juntamente com a história e exame objectivo.
Chromosome	Cromossoma	Estrutura celular muito corável por corantes básicos, que é suporte de informação genética, sendo constituído por nucleofilamentos condensados, que se tornam visíveis durante a mitose e a meiose.
Chromosome in situ hybridization	Hibridação in situ de cromossomas	A hibridação <i>in situ</i> é um método que permite identificar o locus cromossómico onde se localiza uma determinada sequência de DNA previamente clonada. Este método tem como princípio a complementaridade das bases que reage a organização de DNA.
Chromosome instability	Instabilidade cromossómica	<i>A instabilidade cromossómica pode ser algo muito simples como no cromossoma de Filadélfia – translocação cromossómica 9-22 - que dá origem àquele gene fulcral BCR/ABL. É considerada simples pois esta alteração genética por si só dá origem a um tumor específico - LMC.</i>
COPD (chronic obstructive pulmonary disease)	DPCO [doença pulmonar obstrutiva crónica]	A Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica (DPOC) é uma doença broncopulmonar que resulta de uma obstrução das vias aéreas.
Cytogenic	Citogenética	Parte da genética que estuda os componentes celulares que desempenham uma função na transmissão de determinados caracteres, nomeadamente as anomalias cromossómicas responsáveis pelas doenças.
Cytologic diagnosis	Diagnóstico citológico (pode designar-se exame citológico ou citologia)	Em termos de definição, a citologia (Kyros = célula; Logos = estudo) consiste no estudo microscópico de células. Uma extensão desta é a citopatologia, ou diagnóstico citológico, que pode ser entendida como o exame microscópico das células para investigação de alterações clínico-patológicas (Marcos, 2006). A citologia inclui os procedimentos de obtenção e coloração de células para observação microscópica, assim como a sua descrição morfológica.
Cytotoxic	Citotóxico	Citotóxico significa que é lesivo, por exemplo tóxico para as células enquanto que citostático é que impede a divisão. Os fármacos citotóxicos ou citostáticos, também conhecidos como antineoplásicos, são utilizados no tratamento de neoplasias malignas quando a cirurgia ou a radioterapia não são possíveis ou se mostraram ineficazes, ou ainda como adjuvantes da cirurgia

		ou da radioterapia como tratamento inicial. Estes fármacos podem eles próprios estarem indicados no tratamento de tumores como medicação de primeira linha e por si só, isto é, sem ser como adjuvantes ou como terapias de recurso como está aqui escrito, depende é do tumor.
DNA image cytometry	Citometria de imagem	<i>A técnica de citometria de imagem, no entanto, permite a análise de material de arquivo, possibilitando ao operador uma monitorização activa na selecção das células e na rejeição de artefactos (Pape et al., 1992; Mitchie et al., 1994), permitindo a caracterização da ploidia de ADN assim como desenvolver estudos retrospectivos que relacionam o tempo de sobrevida com os parâmetros avaliados na pesquisa de factores de prognóstico.</i>
Dysplasia	Displásia	Corresponde ao desenvolvimento anormal de um tecido, devido ao crescimento de células alteradas; se deixarmos desenvolver esta situação sem qualquer tratamento, alguns casos de displasia podem evoluir para cancro.
Eicosanoid	Eicosanóides	<i>Uma família de moléculas sintetizadas a partir do ácido araquidónico através das ciclooxigenases (COX-1e 2) e lipoxigenases. Sintetizados a partir dos fosfolípidos da membrana celular, são produzidos pela maioria das células dos mamíferos e são moléculas com um grande espectro de acção. Os mecanismos de acção são variados mas geralmente consistem na alteração das concentrações de AMP cíclico ou do cálcio intracelular.</i>
Epidemiologist	Epidemiologista	<i>Um investigador que estuda a ocorrência das doenças ou outros acontecimentos e problemas de saúde em populações. Até recentemente, a generalidade dos epidemiologistas eram médicos, mas posteriormente foram estabelecendo colaboração com estatistas, o que resultou no desenvolvimento dos modelos teóricos fundadores da ciência epidemiológica e no progressivo alargamento da base de recrutamento profissional.</i>
Epithelial cell	Célula epitelial	Um dos diferentes tipos de células que formam o epitélio.
Epithelium	Epitélio	Tecido de revestimento constituído por células justapostas, dispostas numa ou mais camadas. É o tecido que reveste a superfície externa das mucosas e das superfícies das cavidades internas do organismo.

Erythroplakia	Eritroplasia	Lesão pré-cancerosa de uma mucosa, localizada na maior parte dos casos na glândula ou na vulva, com o aspecto de uma placa vermelha, brilhante, lisa ou parcialmente erosiva.
Fluorescent probe	Sonda fluorescente	<i>Estas células têm dentro delas uma sonda fluorescente, isto é uma sonda que emite fluorescência quando excitada por luz de baixo comprimento de onda, as flutuações de fluorescência, dependem dos níveis de iões dentro da célula, neste caso concretamente o ião que nós temos seguido, é o ião de cálcio.</i>
Fungal antibiotic	Antifúngico	Substância que destrói os fungos (fungicida) ou que inibe o seu crescimento ou desenvolvimento (fungistático).
Gastrin releasing peptide	Péptido libertador de gastrina	<i>O GRP está presente nos neurónios da mucosa gástrica e é libertado pela estimulação vagal, conduzindo à libertação de gastrina. Os produtos luminais da degradação das proteínas também estimulam a libertação de gastrina através de um mecanismo mediado pelo GRP.</i>
Gene expression arrays	Regulação da expressão genética	A regulação da expressão genética pode ser explicada por um controlo hierárquico da transcrição ao nível da estrutura do cromossoma (da estrutura da cromatina) e pelas interações combinatórias entre um número limitado de proteínas reguladoras da transcrição e a ARN polimerase, a enzima requerida para a síntese do ARN.
Gene therapy	Terapia génica	Transferência de genes sãos, normais para células portadoras de genes patogénicos a fim de corrigir uma anomalia genética. Os vectores actualmente utilizados são retrovírus que se injectam in vitro nas células colhidas no doente (ex.: linfócitos) antes de os reintroduzir no organismo.
Genetics	Genética	Ciência biológica que tem por objecto o estudo dos fenómenos e das leis da transmissão hereditária (considerando os genes) dos caracteres e a variação destes.
Genomic	Genómica (relacionado com genoma)	Estudo de genomas completos. Genoma é a informação genética total numa célula particular ou organismo.
Hepatitis B virus (HBV)	Vírus da Hepatite B (VBH)	O Vírus da Hepatite B (VHB), da família dos hepadnavírus, é composto por ácido desoxirribonucleico sendo o único vírus de hepatite a possuir ADN como material genético e tem um diâmetro de 42 nm.
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein	RNA nuclear heterogéneo	<i>A segunda enzima, é a RNA polimerase II (20-40% da actividade total de síntese de RNA), e é</i>

		<i>responsável pela síntese do RNA heterogéneo (hnRNA), o precursor do mRNA. A RNA Polimerase III é responsável pela restante actividade de produção de RNA (até 10% do total), tem localização nucleoplasmática e é responsável pela produção dos tRNA e muitos dos “small nuclear RNA” (snRNA).</i>
Histology	Histologia	Ciência biológica que tem por objecto o estudo dos tecidos; anatomia geral microscópica.
Histopathological examination	Exame histopatológico	Exame que estuda os tecidos do organismo ao microscópio (em contexto laboratorial), permitindo afirmar com segurança a natureza da lesão existente. Neste exame examina-se um fragmento da estrutura, possibilitando uma avaliação de toda a composição do tecido.
Human papillomavirus (HPV)	Vírus do papiloma humano	Vírus sexualmente transmissível com a capacidade de infectar todas as pessoas, independentemente do seu sexo, idade, etnia ou localização geográfica. Desde o início dos anos 90, a associação deste vírus com o desenvolvimento do carcinoma do colo do útero, verrugas e outras patologias anogenitais tem sido muito forte, acreditando-se hoje que esteja presente em 99% dos casos de cancro do colo do útero.
Human telomerase reverse transcriptase (hTERT)	Transcriptase reversa da telomerase	<i>O aumento do comprimento dos telómeros é efectuado fundamentalmente pela acção de uma transcriptase reversa especializada denominada telomerase, cuja base consiste numa subunidade proteica catalítica e uma subunidade de RNA (Greider e Blackburn, 1985, 1987, 1989; Lingner et al. 1997). A telomerase aumenta os telómeros através de uma transcrição reversa repetitiva de uma pequena sequência, usando a subunidade de RNA como molde.</i>
Human telomerase RNA (hTR)	RNA nuclear da telomerase	<i>Basicamente, a telomerase é um complexo composto por duas subunidades, a subunidade catalítica hTERT (human Telomerase Reverse Transcriptase) e a pequena subunidade de RNA nuclear RNA hTR (human Telomerase RNA), codificada pelo gene TERC (Telomerase RNA Component).</i>
Immunohistochemistry	Imunohistoquímica	<i>Mas foi sem dúvida nenhuma, a imunohistoquímica que, a partir da década de 80 do século XX, fez a viragem definitiva e passou a ser uma parte essencial no diagnóstico e na investigação em patologia.</i> <i>Ela tem o potencial de ter transformado uma arte subjectiva numa ciência objectiva, com base no reconhecimento antigénico de numerosos marcadores celulares.</i>

Immunotherapy	Imunoterapia	A imunoterapia, também chamada terapêutica biológica, recorre à capacidade natural do nosso organismo para combater o cancro, através do sistema imunitário (sistema de defesa natural do organismo).
Leukoplakia lesion	Lesão leucoplásica	A lesão leucoplásica, segundo a OMS, consiste numa mancha/placa branca que não pode ser clínica ou patologicamente caracterizada como outra condição.
Loss of heterozygosity (LOH)	Perda de heterozigotia	<i>Perda, por deleção, de uma cópia de um gene supressor tumoral - processo designado por perda de heterozigotia ("loss of heterozygosity" ou LOH), Seguida da inactivação da segunda cópia desse gene por outro mecanismo.</i>
Loss of nucleotide excision repair	Reparação por excisão do nucleótido	<i>Responsável pela remoção de dímeros de timina e grandes aductos. Disfunções desta via estão na origem da doença Xeroderma pigmentosum, caracterizada por uma extrema sensibilidade à luz UV. Os doentes desenvolvem cancro da pele em áreas expostas ao sol.</i>
Lung cancer	Cancro do pulmão	<i>A maioria das formas de cancro do pulmão tem a sua origem nas células dos pulmões; no entanto, o cancro também pode propagar-se (metástase) ao pulmão a partir de outras partes do organismo. O cancro do pulmão é o mais frequente, quer em homens, quer em mulheres, e o mais importante, pois é a causa mais frequente de morte causada por cancro tanto em homens como em mulheres.</i>
Marker	Marcador	Um marcador tumoral (MT) é uma substância usada como indicador de malignidade, que pode estar presente nas células tumorais, ou ser libertada pelo tumor ou ainda ser produzida pelo organismo hospedeiro em resposta à presença do tumor. Do ponto de vista bioquímico, os MT são geralmente proteínas ligadas a hidratos de carbono ou a lípidos, que podem comportar-se como antígenos celulares (ex. CA 125), hormonas (ex. calcitonina), enzimas (ex. NSE) ou proteínas séricas (ex. imunoglobulinas monoclonais).
Metastatic disease	Doença metastática	Processo de disseminação de um tumor do seu local de origem -primário, para outros locais próximos ou distantes- secundários. No caso da doença metastática (que se espalha para outros órgãos), 20% dos pacientes vivem de 6 a 12 meses". (Estas taxas de sobrevivência variam muito consoante o tipo de cancro, mas seja qual for o tipo histológico de cancro sólido, de acordo com o esquema de estadiamento TNM um cancro metastizado está no IV- último e tem mau

		prognostico).
Methylation	Metilação	Processo bioquímico de fundamental importância para o bom funcionamento orgânico e está implicada em milhares de reacções por segundo. Bioquimicamente consiste na troca de grupos metil entre vários compostos químicos. A metilação é indispensável para formar neurotransmissores e substâncias constituintes das estruturas cerebrais, como são exemplo os fosfolípidos das estruturas neurológicas.
Microarrays	Microarranjo	<i>Outros genes ou produtos de genes foram ainda detectados sobreexpressos em CPC da cabeça e pescoço, sendo as novas técnicas de microarranjo um importante meio de identificação de proto-oncogenes com relevância nesta área.</i>
Microsatellite instability	Instabilidade de microsatélite	<i>A detecção de instabilidade de microssatélites nos tumores de membros de famílias suspeitas de HNPCC, aumenta a probabilidade de detectar indivíduos portadores de mutações germinativas nos genes de reparação do ADN. Deste modo, a pesquisa de instabilidade de microssatélites em tecido neoplásico de doentes suspeitos de HNPCC é um bom método de rastreio, e deve ser realizada em qualquer doente suspeito de HNPCC de forma a indicar ou excluir o doente para aconselhamento e diagnóstico genético.</i>
Microsatellite marker	Marcador microssatélite	Os microssatélites são um dos marcadores moleculares mais polimórficos encontrados nos genomas dos eucariotas.
Molecular biology	Biologia Molecular	<i>Estudo da Biologia em nível molecular, com especial foco no estudo da estrutura e função do material genético e seus produtos de expressão, as proteínas. Mais concretamente, a Biologia Molecular investiga as interações entre os diversos sistemas celulares, incluindo a relação entre DNA, RNA e síntese proteica.</i>
Molecular diagnostic	Diagnóstico molecular	<i>O desenvolvimento do diagnóstico molecular tem-se baseado nos testes para doenças infecciosas, mas novas oportunidades surgem nas áreas de oncologia molecular e farmacogenómica, entre outras.</i>
Molecular marker	Marcador molecular	Um Marcador Molecular de ADN é uma localização física identificável num cromossoma cuja transmissão hereditária pode ser monitorizada e que apresenta um determinado nível de variabilidade entre organismos.
Monoclonal antibody	Anticorpo monoclonal	Proteína sintética que foi preparada expressamente para atingir células cancerosas específicas no organismo.

Mutagen	Mutagénio	Agente físico, químico ou biológico que, em quando exposto às células, pode causar mutação, ou seja, um dano na molécula de ADN que não é reparado no momento da replicação celular, e é transmitido para as gerações seguintes. Os agentes mutagénicos podem ser físicos (radiação ionizante, raios UVB, UVC); químicos ou biológicos (acção de vírus e bactérias).
Mutagenesis	Mutagénese	Processo que conduz a que um agente químico ou físico (mutagénico) provoque o aparecimento de mutações.
Neoplastic	Neoplásico	Relativo a um tumor ou à sua formação.
Neuroendocrine protein	Proteína neuroendócrina	A NSP, ou a proteína neuroendócrina específica, é um dos genes expressos no córtex cerebral fetal que é afectado por variações do estado tireoideu materno. Devido à sua participação na diferenciação neuronal, a NSP poderá ser uma mediadora importante das hormonas tireoideias no desenvolvimento cerebral.
Neuron specific enolase	Neuroenolase específica	Marcador tumoral sérico – enzima.
NSCLC	CPNPC [Cancro do pulmão de não-pequenas células]	<i>O cancro do pulmão de não-pequenas células, é mais comum que o cancro do pulmão de pequenas células e, geralmente, cresce e metastiza mais lentamente, ou seja, tem um comportamento menos agressivo.</i>
Nucleotide	Nucleótido	Nome genérico dos compostos constituídos por um açúcar (ribose ou desoxirribose) ligado ao ácido fosfórico sob a forma de éster e combinado com uma base púrica (adenina ou guanidina) ou com uma base pirimídica (uracilo, citosina ou timina). Os nucleótidos são constituintes essenciais de todas as células vivas, sob a forma de ácidos nucleicos ou de fosfatos destes ácidos.
Oncology	Oncologia	Estudo dos tumores e, por extensão, dos cancros.
Oral cancer	Cancro oral	Cancro que acomete a porção da garganta para frente, ou seja toda a parte visível da boca até os lábios. O seu local mais comum é o assoalho da boca, em baixo da língua, a porção lateral da língua e o palato mole. Por isso mesmo é facilmente visível a olho nu tanto pelo próprio paciente quanto por dentista ou médico.
Oral lesion	Lesão oral	<i>O cancro oral – que se apresenta habitualmente como uma lesão oral ulcerada única, instalada sobre base mucosa endurecida – mantém-se como uma doença com altas taxas de incidência e um grande número de novos casos por ano.</i>

Pathogenesis	Patogénese	1) Estudo das causas e do desenvolvimento das lesões e dos estados patológicos. 2) Mecanismo através do qual se produz um estado patológico ou uma doença.
Point mutation	Mutação pontual	<i>Quando se dá a substituição de um nucleótido por outro numa sequência, trata-se de uma mutação pontual (pontual porque afecta um par nucleotídico apenas).</i>
Polymerase chain reaction (PCR)	Reacção em cadeia da polimerase	Técnica de Biologia Molecular que permite replicação in vitro do ADN de forma extremamente rápida. Com a PCR, quantidades mínimas de material genético podem ser amplificadas milhões de vezes em poucas horas, permitindo a detecção rápida e fiável dos marcadores genéticos de doenças infecciosas, cancro ou doenças genéticas.
Polymorphism	Polimorfismo	Mecanismo de dynamic binding que determina qual a definição de método que será utilizada quando um nome de um método foi sobreposto (overridden). Quando nos referimos a um gene que codifica e posteriormente origina uma proteína polimorfismo significa literalmente que pode ter várias formas mas na medicina é que pode ter expressões diferentes e consequentemente funções diferentes, no caso de genes relacionados com o cancro existem vários polimorfismos que podem conferir maior ou menor susceptibilidade para a doença.
Premalignant lesion	Lesão pré-maligna	Alteração morfológica com maior probabilidade de evolução para cancro (invasor).
Protein encoded	Proteína codificada	<i>O terceiro tipo de ARN, o ARNt, é o encarregue de levar os aminoácidos presentes no citoplasma até aos ribossomas para que os alinhem segundo a ordem codificada pelo ARNm e lida pelo ARNr. Enlaçando um a um os aminoácidos que correspondem aos sucessivos codões, através da acção de enzimas específicas, forma-se a proteína codificada, que se liberta no citoplasma.</i>
Protein kinases	Cinase de proteínas	<i>Aquela fosforilação implica a intervenção de enzimas designadas cinases de proteínas, que catalisam a transferência do fosfato terminal do ATP para uma cadeia lateral da proteína, provocando, em geral, uma marcada alteração funcional da mesma.</i>
Proteomics	Proteómica	Estudo do proteoma. Proteoma é o conjunto completo de proteínas codificadas pelo genoma.

PSA test	Teste de PSA [Antigénio próstático específico]	PSA é um constituinte do sêmen produzido pela próstata que aparece em taxas normais de sangue. O teste do antígeno prostático (PSA) é um exame de sangue que mede essa quantidade.
Restriction fragment length polymorphism	Polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição	A técnica de RFLP's (Restriction Fragment Length Polymorphisms) baseia-se na hidrólise do DNA com enzimas de restrição e posterior separação, por electroforese, dos fragmentos gerados, que correspondem a padrões de restrição específicos. Estes padrões podem ser característicos ao nível da espécie ou mesmo ao nível da estirpe.
RNA (Ribonucleic acid)	ARN (Ácido ribonucleico)	Ácido nucleico cujo açúcar é a ribose, e que é um constituinte do citoplasma e do núcleo das células.
RNA splicing	Splicing de ARN	<i>O splicing é essencial para o transporte do mRNA entre o núcleo (onde é sintetizado) e o citosol (onde dirige a síntese proteica): o complexo de proteínas de splicing é reconhecido pelo complexo EJC, e RNA não pode sair do núcleo antes do splicing.</i>
Salivary duct	Glândula salivar	<i>As duas glândulas salivares de maior dimensão situam-se exactamente por detrás do ângulo do maxilar, diante dos ouvidos; dois pares menores estão no mais profundo do pavimento da boca e outras glândulas de tamanho minúsculo estão distribuídas por toda a boca. (Designação relativa às parótidas).</i>
SCLC	Cancro do pulmão de pequenas células (CPCC)	<i>O CPCC é menos comum do que o CPNPC, e representa 10 a 15% dos casos de cancro de pulmão. Ocorre quase na totalidade em fumadores; regra geral, começa num brônquio central, cresce e metastiza rapidamente, antes de provocar sintomas específicos. Este facto é de extrema importância porque, na maioria dos casos, quando é feito o diagnóstico, já estão vários órgãos afectados.</i>
Smoking cessation	Cessaçãotabágica	<i>Uma das maiores dificuldades que os fumadores encontram no processo da cessaçãotabágica está no facto de todos os inconvenientes se fazerem sentir imediatamente (síndrome de abstinência) e as enormes vantagens (respirar melhor, dormir e descansar melhor, redescobrir aromas e sabores, roupa, automóvel e casa sem cheiros, maior resistência física e melhor desempenho sexual, etc., etc.) só se sentirem a médio ou longo prazo.</i>
Somatic cell	Célula somática	<i>Célula nervosa em que o citoplasma e o núcleo ficam igualmente corados pelo azul de metileno.</i>

Sputum cytology	Citologia de expectoração	Análise citológica da células presentes na expectoração.
Squamous cell carcinoma	Carcinoma de célula escamosa	Cancro que se origina na camada intermédia da epiderme.O carcinoma de células escamosas costuma desenvolver-se em zonas da pele expostas ao sol, mas também o pode fazer em qualquer outra parte do corpo, como a língua ou a mucosa bucal. Pode formar-se numa pele de aspecto normal ou numa pele danificada (embora muitos anos antes) pela exposição ao sol (queratose actínica).O carcinoma de células escamosas começa como uma zona vermelha com superfície crostosa, descamativa, que não sara. À medida que cresce, o tumor pode tornar-se nodular e duro e, por vezes, apresentar uma superfície verrugosa. Por fim, o cancro converte-se numa úlcera aberta e cresce dentro do tecido subjacente.
Stage	Estadio	<i>Se a biópsia revelar a presença de cancro, o seu médico realizará um exame pélvico completo e poderá ter de recolher tecido adicional para determinar a extensão (estadio) da doença. O estadio de evolução revela se o tumor invadiu tecidos adjacentes, se o cancro se disseminou e, em caso afirmativo, para que regiões.</i>
Surgical resection	Recessão cirúrgica	A recessão cirúrgica (laparoscópica ou por laparotomia) é o tratamento de escolha e é habitualmente curativo. Visto que a maioria destes tumores são de natureza benigna, a percentagem de cura ronda os 75-98%, com o prognóstico a depender do estágio de apresentação e/ou se a recessão completa foi conseguida.
Systemic therapy	Terapia sistémica	Tratamento que utiliza substâncias que circulam na corrente sanguínea, atingindo e afectando células em todo o corpo.
Telomerase	Telomerase	Enzima ribonucleoproteica que estabiliza o comprimento dos telómeros, pela adição de repetições (TTAGGG) teloméricas nas extremidades dos cromossomas, compensando a erosão contínua destes a cada divisão celular.
Tumor	Tumor	Massa anormal de tecido que resulta de divisão celular excessiva. O tumor faz parte de um dos sinais cardinais da inflamação (dor, tumor, rubor e calor). Os tumores podem ser benignos (não cancerígenos) ou malignos (cancerígenos).

Tumor antigen	Antigénio tumoral	<i>Os antígenos tumorais foram identificados em vários tipos de cancro, como o melanoma maligno, o cancro do osso (osteossarcoma) e alguns tipos de cancros gastrointestinais. As pessoas com estes cancros podem desenvolver anticorpos contra esses antígenos tumorais, mas em geral os antígenos não produzem uma resposta imunológica adequada para controlar o cancro. Além disso, os anticorpos podem ser incapazes de destruir o cancro e algumas vezes parece que até estimulam o seu crescimento.</i>
Tumor suppressor gene	Gene supressor tumoral	<i>A segunda via implica a inactivação de um gene inibitório da proliferação celular: este tipo de alteração apresenta um efeito recessivo - ambas as cópias desse gene têm de ser inactivadas ou deletadas para que a célula se liberte do controlo proliferativo exercido por esse gene - denominando-se neste caso o gene alterado gene supressor tumoral (também denominado oncosupressor ou anti-oncogene). Assim, enquanto que a alteração genética que afecta um proto-oncogene, geralmente resulta num ganho de função por parte do gene afectado, a alteração genética que envolve um gene supressor tumoral implica a perda de função desse mesmo gene.</i>

Bibliografia

CAETANO-MOCHO, M. C. ; VILHENA COSTA, M. R. *Terminologia da lexicologia e da lexicografia. In Dicionário de termos linguísticos, vol. II.* Lisboa: Cosmos, 1991.

CONTENTE, M.; Magalhães, J. C. *Terminologia médica. In Actas del V Congreso Luso-Hispano de Lenguas Aplicadas a las Ciencias.* Valência, 1994

COSTA, Maria Rute. *Pressupostos teóricos e metodológicos para a extracção automática de unidades terminológicas multilexémicas.* Tese de Doutoramento. Universidade Nova de Lisboa, 2001.

DR, Hermínio. “Importação-exportação de termos”. *Confluências, Revista de tradução científica e técnica* Nº2, Maio 2005, pp. 69-83.

ESTAMPA (ED.). *Dicionário Compacto: Medicina e Farmácia em 11 Línguas.* Portugal, 2003.

HARTNACK, Vicky. “Short forms, long search: trying to make sense of abbreviations”. *Confluências, Revista de tradução científica e técnica* Nº1, Novembro 2004.

HATIM, Basil; MUNDAY Jeremy. *Translation: An advanced research book.* Routledge, 2004.

HUTCHINS, W.J. *Machine Translation: Past, Presence, Future.* New York: Ellis Horwood/Wiley, Chichester, 1986;

LÓPEZ-CÓZAR, José; MÁ, Assumpta. *Manual para la redacción, traducción y publicación de textos médicos.* Barcelona: Masson, 1995.

PERROTTI-GARCIA, Ana Julia. “Reflexões sobre as qualidades de um bom glossário técnico: limites e limitações”. *Confluências, Revista de tradução científica e técnica* Nº1, Novembro 2004.

SANTOS-GOMES, Gabriela M. Santos. “A língua portuguesa e os termos técnicos e conceitos próprios das ciências biológicas”. *Confluências, Revista de tradução científica e técnica* Nº3, Novembro 2005, pp. 90-92.

SINGER, Lúcia M., IGEA, Manuel Jose. *Glossário de trilingue de termos, abreviações e acrónimos usados com frequência em Imunologia 1ª Parte.* Panace. Vol. VI, n.º20. Junho, 2005.

Terminologia e tradução. Comunicação apresentada na Expolingua 1992 e publicada em *Terminologias.* Revista da Associação de Terminologia Portuguesa 5-6.

WRIGHT, Sue Ellen; BUDIN, Gerhard. *Handbook of terminology management, Volume 1: Basic aspects of terminology management.* John Benjamins, 1997.

Webgrafia

<http://www.acronymfinder.com/>

<http://www.roche.pt/sites-tematicos/infocancro/index.cfm/tipos/linfoma-hodgkin/lh-glossario/>

<http://www.portaldasaude.pt/portal/conteudos/enciclopedia+da+saude/doencas/cancro/cancro.htm>

<http://www.manualmerck.net/>

<http://www.ipolisboa.min-saude.pt/>

<http://iate.europa.eu/iatediff/SearchByQueryEdit.do>

<http://www.myskincheck.com.pt/05-savoir-glossaire-S.asp>

<http://medicosdeportugal.saude.sapo.pt/glossario>

<http://www.pop.eu.com/portal/publico-geral/ferramentas-3/glossario.html>

http://www.ncc.up.pt/~nam/VHL/Manual_VHL/Pequeno_glossario_medico.html

<http://www.wordreference.com/> -

<http://www.instituto-camoes.pt/glossario/>

<http://www.ligacontracancro.pt/gca/index.php?id=159>

<http://www.proz.com/>

<http://www.proz.com/glossary-translations/>

<http://www.flip.pt/tabid/590/Default.aspx>

<http://dicciomed.es/>

<http://openthesaurus.caixamagica.pt/>

<http://www.salus.it/?idmod=45&lang=itPO%2Flijst.html&v4lang=PO>

<http://acronyms.thefreedictionary.com/>

<http://www.medilexicon.com/>⁸

⁸ Todos os links presentes na webgrafia foram consultados diversas vezes ao longo da elaboração do relatório.

Anexos

Artigo 1 – Molecular biology and early diagnosis in lung cancer



Lung Cancer 38 (2002) S5–S8



www.elsevier.com/locate/lungcan

Molecular biology and early diagnosis in lung cancer

Paul A. Bunn, Jr *

University of Colorado Cancer Center, Campus Box B188, 4200 East Ninth Avenue, Denver, CO 80262, USA

Keywords: Molecular biology; Early diagnosis; Lung cancer

1. The need for screening and early detection

Lung cancer is the leading cause of cancer death throughout the world with more than one million annual deaths [1]. In the United States it is the leading cause of cancer death in both men and women and accounts for an astonishing 28% of all cancer deaths [2]. Lung cancer deaths in women are increasing rapidly in women in developed countries around the globe. In many developing countries more than half of all males smoke. In all developed countries the 5-year survival rates for lung cancer are less than 15% and 5-year survival rates are 5% or less in many developing countries. The poor survival rates are due to the propensity for early spread, the lack of effective tools for screening and early diagnosis and the inability of systemic therapy to cure metastatic disease. Hence, the need for new strategies for screening and early detection are critical to reducing the burden of this dread disease that is self inflicted by corporate greed that pervades our societies. Fortunately, recent discoveries that underlie the biologic and molecular basis for lung cancer provide new tools that many prove useful in the design of new diagnostic strategies.

2. Past studies on sputum cytology and serum proteins

The fact that tobacco smoking produces changes in the respiratory epithelium, that increased tobacco exposure creates greater cytologic atypia, that atypical cells are exfoliated and can be detected by sputum cytologic examination and that progressive atypia in sputum specimens precedes the development of lung cancer was described more than 30 years ago in classic studies reported by Gino Saccomanno, Oscar Auerbach

and their colleagues [3,4]. Based on this knowledge, the NCI sponsored three large screening trials that were designed to evaluate the ability of screening sputum cytology and chest X-rays to detect early lung cancers in smokers [5–8]. In these studies all participants had both examinations at the start of the study. Several hundred prevalence lung cancers were found. Sputum cytology alone detected about 15% of these cancers, both tests were abnormal in about 50% and the remainders were detected by chest X-ray alone. Patients on the screened arm of these studies had a higher than expected number of early stage patients and the 5-year survival rates of screened patients was superior to the survival rates of unscreened patients [9]. However, the lung cancer mortality rates were not decreased by screening, a fact that was attributed primarily to overdiagnosis bias, but also to lead-time and length time bias [9,10]. Thus, neither routine chest X-rays nor sputum cytology are currently recommended for routine screening use.

The discovery that many tumor antigens were shed into the circulation lead to great expectations that a serum protein test could be developed to detect early lung cancer like the PSA test for prostate cancer. Many studies evaluated antigens such as carcinoembryonic antigen (CEA) alpha feto-protein, or neuroendocrine proteins (such as neuron specific enolase, chromogranin, gastrin releasing peptide, ACTH or AVP) as early markers for lung cancer [11–13]. Unfortunately, none of these proteins proved to be useful or cost-effective in lung cancer screening. One of the limitations of these markers was that many of these markers are also increased in COPD and other inflammatory lung diseases.

3. Studies of automated sputum cytology, lung cancer antigens in sputum cytology

Computer-assisted automated means of cytologic diagnosis have been shown to be superior to visual

* Tel.: +1-303-315-3007; fax: +1-303-315-3304

E-mail address: paul.bunn@uchsc.edu (P.A. Bunn, Jr).

analysis for premalignant lesions of the cervix. Several computer-assisted devices for the diagnosis of preneoplastic or early neoplastic lung cancers have been developed and tested [14]. Unfortunately, none of these have yet been approved for routine screening for lung cancer. It is likely that preneoplastic and neoplastic cells overexpress some antigens compared with normal epithelial cells and inflammatory cells. Many of these antigens can be detected by immunohistochemical means. Several have been applied to the detection of premalignant cells that are associated with the development of cancer such as heterogeneous nuclear ribonucleoprotein B₁ (hnRNP) [15–17]. Tockman et al. showed that patients whose dysplastic cells expressed this antigen were more likely to develop lung cancer than patients whose dysplastic cells in sputum failed to express this antigen [15]. This potential risk biomarker was also reported to predict lung cancer risk in a case control study of Yunnan tin miners in China [16]. No large follow-up studies have confirmed the clinical usefulness of this or other immunohistochemical markers.

4. Molecular biology: potential new markers

4.1. Tumor suppressor genes; LOH

As described in the review of Sozzi, genetic alterations including loss of heterozygosity at loci on 3p, 9p, 17p have been detected in bodily fluids such as sputum, and bronchial lavage. Circulating tumor DNA with LOH and microsatellite markers has been reported in the serum of lung cancer patients [18,19]. Sozzi et al. looked for LOH and/or microsatellite instability in plasma DNA of 87 stage I–III NSCLC patients and 14 controls. When they combined four of their markers, they found alterations in 35/87 (40%) of patients' plasma but none of the controls [20]. Although there was no association with stage or histology, abnormalities were found in 45% of patients with tumors less than 2 cm [20].

Other studies make it clear that the loss of tumor suppressor genes assessed by LOH occurs early in the pathogenesis of lung cancer [21–24]. When evaluating as few as five markers, LOH can be detected in approximately 50% of smokers with normal appearing bronchial mucosa and 80% with dysplasia. In addition, these LOH abnormalities do not disappear with smoking cessation. The high frequency of abnormalities and the absence of change with smoking cessation raises questions regarding the potential utility of LOH in bronchial tissues as a biomarker for risk of response to chemoprevention. There are no large retrospective or cohort case control studies of the utility of LOH as a biomarker, or a prospective study. Such studies would

be necessary before these types of analysis become routine.

Recent studies demonstrated that lung cancer patients have increased levels of circulating DNA compared with normal individuals. This circulating DNA can be quantitated and can be used to detect molecular changes such as methylation of promoters of tumor suppressor genes (see below). Sozzi et al. demonstrated that the majority of stage I NSCLC patients have circulating DNA levels that exceed those in normals, that the DNA levels decline after surgical resection and that circulating DNA levels increase in patients who recur after surgery. These results are extremely encouraging. However, these tests are quite difficult to perform and standardize. The method of sample collection is also extremely important since a few lysed white blood cells can contaminate the serum with DNA. Additional studies of this nature are clearly indicated as are nested case-control studies in high risk smokers.

4.2. Methylation

It is clear that many tumor suppressor genes are silenced by methylation of the promoter as well as by loss and mutation. Among these genes are p¹⁶ [18,25], O6-MGMT [25], RassF1 [26], RAR β [27], FHIT [28], H-cadherin [29], and others. New quantitative assays to detect methylation of tumors have been reported as have analyses of sputum and blood samples. With respect to serum/plasma analysis Sozzi et al. reported p¹⁶ promoter hypermethylation in 63% of tumors and 55% of plasma samples from patients whose tumors had p¹⁶ promoter methylation [30]. With respect to sputum analysis, Belinsky et al. reported aberrant p¹⁶ methylation in three of seven cancer patients and five of 26 cancer free individuals at high risk [18]. They also reported aberrant methylation of the p¹⁶ and/or O6-MGMT promoter from sputum in 100% of patients with squamous cell carcinomas up to 3 years before a clinical diagnosis [25]. While these methods hold greater promise to aid in the early diagnosis of lung cancer, major issues need to be addressed. Among these are the reproducibility of the assays, retrospective case-control studies to show relationships to risk and prospective randomized studies to establish efficacy as screening measures.

4.3. Expression of telomerase

As well described in the review of Shay et al., telomerase is a potentially useful biomarker, because it is detected in most cancers and is infrequently expressed by normal tissues. Studies have also evaluated the essential components of telomerase activity including human telomerase RNA (hTR), and human telomerase reverse transcriptase (hTERT) [31]. As indicated in Dr Shay's report, less than 5% of lung tissues but more than

80% of NSCLC and 100% of SCLC samples were reported to express telomerase. It is not clear, however, whether telomerase expression in sputum, blood or bronchial biopsy would be useful for screening, for assessing risk or for evaluating response to an intervention. Such studies are extremely important for the future.

4.4. Gene expression arrays

The advent of the technology to evaluate the expression of many thousands of genes simultaneously, lead several groups to study gene expression profiles in lung cancer. The groups from Michigan, Stanford and Harvard all showed that the expression of many genes cluster extremely well with pathologic classification [32–34]. All three groups reported that there are several subclasses of adenocarcinomas that have differing prognoses. Adenocarcinomas with neuroendocrine gene expression tended to have a less favorable prognosis [34]. Adenocarcinomas with enzymes involved in eicosanoid metabolism were also associated with a poor prognosis [33]. At least 900 genes are differentially expressed between lung cancers and normal lung samples and at least 44 are consistently overexpressed at levels 100 fold or greater compared with normal lung. The proteins encoded by many of these genes are well known. Many have cell surface expression and monoclonal antibodies reacting with many of these proteins are available. Immunohistochemical staining or quantitative PCR analysis suggests that normal proteins of upregulated genes are present in only about 20% of cases. These proteins provide excellent targets for assays to detect early lung cancers in sputum or serum. Such studies are planned but none have been reported to date. It is likely that large-scale gene expression studies will provide novel proteins for study but will not be useful by themselves for screening or early diagnosis.

4.5. Proteomics

Advances in automated methods for detecting multiple proteins from cells or fluids has lead to studies seeking to identify novel proteins associated with lung cancer and preneoplastic lesions. Several studies have shown that several hundred proteins can be identified and quantitated as differing between lung cancer cells and normal epithelial cells [32,35]. Characterization of each of these proteins is complex. No studies are yet reported on the ability of this technique to detect cancer related proteins from bodily fluids or biopsies, but many such studies are planned.

5. Conclusions

Molecular biologic techniques have identified many genes and proteins whose expression is increased or decreased in lung cancers and preneoplastic lesions. The expression and abnormalities in the gene or protein can be detected most often in the tumor cells but also in sputum samples and plasma. Studies suggest a potential role for the detection of these abnormalities for screening and/or early detection. However, the clinical use of these tests cannot be recommended until there are confirmatory studies of reproducibility, case-control studies showing sensitivity and specificity and well controlled prospective trials.

References

- [1] Peto R, Lopez AD, Boreham J, Thun M, Heath C, Doll R. Mortality from smoking worldwide. *Br Med Bull* 1996;52:12–21.
- [2] Jemal A, Thomas A, Murray T, Thun M. Cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2002;52:23–47.
- [3] Saccomanno G, Saunders RP, Archer VE, Auerbach O, Kuschner M, Beckler PA. Cancer of the lung: the cytology of sputum prior to the development of carcinoma. *Acta Cytol* 1965;9:413–23.
- [4] Auerbach O, Hammond EC, Garfinkel L. Changes in bronchial epithelium in relation to cigarette smoking, 1955–1960 vs. 1970–1977. *New Engl J Med* 1979;300:381–5.
- [5] Hirsch FR, Franklin WA, Gazdar AF, Bunn PA, Jr. Early detection of lung cancer: clinical perspectives of recent advances in biology and radiology. *Clin Cancer Res* 2001;7:5–22.
- [6] Melamed MR, Flehinger BJ, Zaman MB, Heelan RT, Parchick WA, Martini N. Screening for lung cancer: results of the Memorial Sloan–Kettering study in New York. *Chest* 1984;86:44–53.
- [7] Fontana RS, Sanderson DR, Woolner LB, Taylor WF, Miller WE, Muhm JR. Lung cancer screening. The Mayo program. *J Occup Med* 1986;28:746–50.
- [8] Tockman MS. Survival and mortality from lung cancer in a screened population: The Johns Hopkins Study. *Chest* 1986;89:324S–5S.
- [9] Marcus PM, Bergstralh EJ, Fagerstrom RM, et al. Lung cancer mortality in the Mayo Lung Project: impact of extended follow-up. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:1308–16.
- [10] Patz EF, Jr, Goodman PC, Bepler G. Screening for lung cancer. *New Engl J Med* 2000;343:1627–33.
- [11] Nisman B, Lafair J, Heching N, Lyass O, Baras M, Peretz T, et al. Evaluation of tissue polypeptide specific antigen, CYFRA 21-1, and CEA in non-small cell lung carcinoma. *Cancer* 1998;82:1850–9.
- [12] Plebani M, Basso Dm Navaglia F, De Paoli M, Tommasini A, Cipriani A. Clinical evaluation of seven tumour markers in lung cancer diagnosis: can any combination improve the results. *Br J Cancer* 1995;72:170–3.
- [13] Nobels FR, Kwekkeboom DJ, Coopmans W, et al. Chromogranin A as serum marker for neuroendocrine neoplasia: comparison with neuron-specific enolase and the alpha-subunit of glycoprotein hormones. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2622–8.
- [14] Payne PW, Sebo TJ, Doudkine A, et al. Sputum screening by quantitative microscopy: a reexamination of a portion of the National Cancer Institute Cooperative Early Lung Cancer Study. *Mayo Clin Proc* 1997;72:697–704.

- [15] Tockman MS, Gupta PK, Myers JD, et al. Sensitive and specific monoclonal antibody recognition of human lung cancer antigen on preserved sputum cells: a new approach to early lung cancer detection. *J Clin Oncol* 1988;6:1685–93.
- [16] Qiao Y-L, Tockman MS, Li L, et al. A case-cohort study of an early biomarker of lung cancer in a screening cohort of Yunnan tin miners in China. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 1997;6:893–900.
- [17] Sueoka E, Goto Ym Sueoka N, Kai Y, Kozu T, Fujiki H. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein B1 as a new marker of early detection for human lung cancers. *Cancer Res* 1999;59:1404–7.
- [18] Belinsky SA, Nikula KJ, Palmisano WA, et al. Aberrant methylation of p¹⁶(INK4a) is an early event in lung cancer and a potential biomarker for early diagnosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:11891–6.
- [19] Esteller M, Hamilton SR, Burger PC, Baylin SB, Herman JG. Inactivation of the DNA repair gene 06-methylguanine-DNA methyltransferase by promotor hypermethylation is a common event in primary human neoplasia. *Cancer Res* 1999;59:793–7.
- [20] Sozzi G, Musso K, Ratcliffe C, Goldstraw P, Pierotti MA, Pastorino U. Detection of microsatellite alterations in plasma DNA of non-small cell lung cancer patients: a prospect for early diagnosis. *Clin Cancer Res* 1999;5:2689–92.
- [21] Mao L, Lee JS, Kurie JM, et al. Clonal genetic alterations in the lungs of current and former smokers. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:857–62.
- [22] Wistuba II, Berry J, Behrens C, et al. Molecular changes in the bronchial epithelium of patients with small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2000;7:2604–10.
- [23] Wistuba II, Behrens C, Mirmani AK, et al. High resolution chromosome 3p allelotyping of human lung cancer and preneoplastic/preinvasive bronchial epithelium reveals multiple, discontinuous sites of 3p allele loss and three regions of frequent breakpoints. *Cancer Res* 2000;60:1949–60.
- [24] Park IW, Wistuba II, Maitra A, et al. Multiple clonal abnormalities in the bronchial epithelium of patients with lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:1863–8.
- [25] Palmisano WA, Divine KK, Saccomanno G, et al. Predicting lung cancer by detecting aberrant promoter methylation in sputum. *Cancer Res* 2000;60:5954–8.
- [26] Burbee DG, Forgacs E, Zochbauer-Muller S, et al. Epigenetic inactivation of RASSF1A in lung and breast cancers and malignant phenotype suppression. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:691–9.
- [27] Virmani AK, Rathi A, Zochbauer-Muller S, et al. Promoter methylation and silencing of the retinoic acid receptor-beta gene in lung carcinomas. *J Natl Cancer Inst* 2000;93:1303–7.
- [28] Zochbauer-Muller S, Fong KM, Maistra A, et al. 5'CpG island methylation of the FHIT gene is correlated with loss of gene expression in lung and breast cancer. *Cancer Res* 2001;61:3581–5.
- [29] Toyooka KO, Toyooka S, Virmani AK, et al. Loss of expression and aberrant methylation of the CDH13 (H-cadherin) gene in breast and lung carcinomas. *Cancer Res* 2001;61:4556–60.
- [30] Sozzi G, Conte D, Mariani L, et al. Analysis of circulating tumor DNA in plasma at diagnosis and during follow-up of lung cancer patients. *Cancer Res* 2001;61:4675–8.
- [31] Hiyama Km Hiyama E, Ishioka S, Yamakido M, et al. Telomerase activity in small-cell and non-small-cell lung cancers. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:895–902.
- [32] Oh JM, Brichory F, Puravs E, et al. A database of protein expression in lung cancer. *Proteomics* 2001;1:1303–19.
- [33] Garber ME, Troyanskaya OG, Schluens K, et al. Diversity of gene expression in adenocarcinoma of the lung. *PNAS* 2001;98:13784–9.
- [34] Bhattacharjee A, Richards WG, Staunton J, et al. Classification of human lung carcinomas by mRNA expression profiling reveals distinct adenocarcinoma subclasses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:13790–5.
- [35] Brichory F, Beer D, Le Naour F, Giordano T, Hanash S. Proteomics-based identification of protein gene product 9.5 as a tumor antigen that induces a humoral immune response in lung cancer. *Cancer Res* 2001;61:7908–12.

Tradução – A biologia molecular e o diagnóstico precoce no cancro do pulmão



P.A. Bunn, Jr / *Cancro do Pulmão* 38 (2002) S5–S8

Cancro do pulmão 38 (2002) P5-P8



www.elsevier.com/locate/lungcan

A biologia molecular e o diagnóstico precoce no cancro do pulmão

Paul A. Bunn*

University of Colorado Cancer Center, Campus Box B188, 4200 East Ninth Avenue, Denver, CO 80262, USA

Palavras-chave: Biologia molecular; Diagnóstico precoce; Cancro do pulmão

1. A necessidade de rastreio e a detecção precoce

O cancro do pulmão é a principal causa de morte por cancro no mundo com mais de um milhão de mortes por ano [1]. Nos Estados Unidos é a principal causa de morte por cancro em homens e mulheres, sendo responsável por o número surpreendente de 28% entre todas as mortes por cancro [2].

As mortes por cancro do pulmão estão a aumentar rapidamente nas mulheres dos países desenvolvidos. Em vários países desenvolvidos mais de metade dos homens fumam. Nos países desenvolvidos a taxa de sobrevivência aos 5 anos para o cancro do pulmão é inferior a 15% e em países em vias de desenvolvimento esta taxa é igual ou inferior a 5%. As taxas mais baixas de sobrevivência resultam da propensão para a propagação rápida, a falta de ferramentas eficazes para o rastreio e diagnóstico precoce e a incapacidade da terapia sistémica de curar a doença metastática. Assim, a necessidade de novas estratégias para o rastreio e diagnóstico precoce são fundamentais para reduzir o peso desta doença crítica que é auto-infligida pela afeição empresarial que invade a nossa sociedade. Felizmente, descobertas recentes sustentadas em bases biológicas e moleculares do cancro do pulmão fornecem novas ferramentas que se afirmam úteis na criação de novas estratégias de diagnóstico.

2. Estudos anteriores em citologia de expectoração e proteínas de soro

Há mais de 30 anos, estudos clássicos de Gino Saccamano, Oscar Auerbach e os seus colegas, [3,4] relatavam que o fumo do tabaco produz alterações no epitélio respiratório, que a exposição excessiva ao tabaco cria uma forte atipia citológica, provocando a esfoliação das células atípicas, sendo estas detectadas pelo exame de citologia da expectoração e a atipia progressiva em amostras de expectoração antecede o desenvolvimento do cancro do pulmão.

* Tel.: +1-303-315-3007; fax: +1-303-315-3304
Email: paul.bunn@uchsc.edu (P.A. Bunn, Jr).

Cancro do pulmão 38 (2002) S5–S8/0169-5002/02/\$ -
consultar tema principal © 2002 Elsevier Science Ireland
Ltd. Todos os direitos reservados.
PII: S 0 1 6 9 - 5 0 0 2 (0 2) 0 0 2 4 4 - 1

Com base neste conhecimento, o NCI (National Cancer Institute) patrocinou três grandes ensaios de rastreio que foram concebidos para avaliar a capacidade de rastreio da citologia da expectoração e do raio-X torácico para detectar precocemente cancros do pulmão em fumadores.[5-8].

Nestes estudos todos os participantes realizaram os dois exames no início do estudo. Foi detectada a prevalência de várias centenas de cancros do pulmão. A citologia da expectoração detectou cerca de 15% destes cancros, ambos os testes eram anormais em cerca de 50% e os restantes foram detectados pelo raio-X torácico isoladamente. Estudos no braço rastreado obtiveram um número superior ao esperado de pacientes no estado inicial e a taxa de sobrevivência de 5 anos dos pacientes rastreados foi superior à taxa de sobrevivência dos pacientes que não foram rastreados [9]. No entanto, as taxas de mortalidade do cancro do pulmão não diminuíram com o rastreio, um facto que foi atribuído principalmente ao excesso ou enviesamento de diagnóstico, mas também ao enviesamento por antecipação e duração diagnóstica [9,10]. Deste modo, não são actualmente recomendados os raio-X torácicos nem a citologia da expectoração no rastreio de rotina.

A descoberta de que vários antígenos tumorais foram depositados na circulação levaram a grandes expectativas de que um teste de proteína de soro poderia ser desenvolvido para detectar precocemente cancros do pulmão, tal como o teste de PSA (antígeno prostático específico) para o cancro da próstata. Vários estudos avaliaram antígenos tais como antígeno carcinoembrionário (ACE), alfa-fetoproteína, ou proteínas neuroendócrinas (enolase específica neuronal, cromogranina, péptido libertador de gastrina, ACTH ou AVP) como marcadores precoces do cancro do pulmão [11-13]. Infelizmente, nenhuma destas proteínas provou ser útil ou ter uma boa relação custo/eficácia no rastreio do cancro do pulmão. Uma das limitações destes marcadores foi que muitos estão também aumentados em DPCO (Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica) e outras doenças inflamatórias do pulmão.

3. Estudos de citologia da expectoração automatizada, antígenos do cancro do pulmão na citologia da expectoração

Os meios automatizados assistidos por computador do diagnóstico citológico têm-se revelado mais eficazes do que a análise visual para lesões pré-malignas do colo do útero. Vários aparelhos assistidos por computador para o diagnóstico do cancro do pulmão pré-neoplásicos ou neoplásico precoce têm sido desenvolvidos e testados [14]. Infelizmente, nenhum destes foi ainda aprovado para o rastreio de rotina do cancro do pulmão. É provável que células pré-neoplásicas e neoplásicas sobre-expressem alguns antígenos quando comparadas com células epiteliais normais e células inflamatórias. Muitos destes antígenos podem ser detectados por meios imunohistoquímicos. Muitos foram aplicados na detecção de células pré-malignas que estão associadas ao desenvolvimento do cancro, tais como a ribonucleoproteína heterogénea nuclear B₁ (hnRNA) [15-17]. Tockman et al. mostrou que os doentes cujas células displásicas expressavam este antígeno estavam mais susceptíveis da desenvolver cancro do pulmão que doentes cujas células displásicas não expressaram este antígeno na expectoração [15]. Este potencial biomarcador de risco foi também referido num estudo de caso-controle de Yunnan tin em mineiros na China para prever o risco de cancro do pulmão [16]. Nenhum estudo de seguimento confirmou a utilidade clínica deste ou outro marcador imunohistoquímico.

4. Biologia molecular: a descoberta de novos marcadores potenciais

4.1 Genes supressores tumorais; LOH

Como descrito na análise de revisão de Sozzi, as alterações genéticas, incluindo a perda de heterozigotia dos loci em 3p, 9p e 17p, tem sido detectada em fluidos corporais tais como na expectoração e lavagem brônquica. ADN circulante tumoral com LOH e marcadores microssatélites têm sido encontrados no soro de doentes com cancro do pulmão [18,19]. Sozzi et al. procuraram LOH e/ou instabilidade de microssatélites no ADN em plasma de 87 pacientes em estadio I-III CPNPC e 14 controlos. Quando estes combinaram quatro dos seus marcadores, encontra-se alterações no plasma de 35/87 (40%) dos pacientes mas nenhum dos controlos [20]. Embora não exista nenhuma associação com o estadio ou histologia, foram encontradas anomalias em 45% dos pacientes com tumores com menos de 2 cm [20]. Outros estudos deixam claro que a perda dos genes supressores tumorais estimados pelo LOH ocorre precocemente na patogenia do cancro do pulmão [21-24]. Ao avaliar apenas cinco marcadores, o LOH pode ser detectado em aproximadamente 50% dos fumadores com mucosa brônquica aparentemente normal e em 80% com displasia. Além do mais, estas anomalias do LOH não desaparecem com a cessação tabágica. A elevada frequência de anomalias e a ausência de mudanças após a cessação tabágica provoca questões relativas à utilidade potencial do

LOH nos tecidos brônquicos como um biomarcador de risco para resposta à quimioterapia profilaxia. Não existem estudos retrospectivos ou de caso-controle, de coorte nem estudos prospectivos da utilidade da LOH como um biomarcador. Tais estudos seriam necessários antes deste tipo de análises se tornarem rotina. Estudos recentes demonstraram que os pacientes com cancro do pulmão têm níveis aumentados de ADN circulante, quando comparados com indivíduos normais. Este ADN circulante pode ser quantificado e pode ser usado para detectar modificações moleculares tais como metilação dos promotores dos genes supressores tumorais (ver abaixo). Sozzi et al. demonstraram que a maioria dos pacientes do estadio I CPNPC têm níveis de ADN circulante que excedem os normais, que os níveis de ADN diminuem depois de recesso cirúrgica e que os níveis de ADN circulante aumentam em pacientes com recidiva depois da cirurgia. Estes resultados são extremamente encorajadores. No entanto, estes testes são difíceis de executar e padronizar. O método de recolha de amostras é também extremamente importante já que alguns glóbulos brancos lisados podem contaminar o soro com ADN. Estudos adicionais desta natureza são claramente indicados como estudos de caso-controle aninhados para fumadores de risco elevado.

4.2 Metilação

Está claro que muitos genes supressores tumorais são silenciados com a metilação do promotor assim como através da perda e mutação. Entre estes genes estão o p¹⁶ [18,25], O6-MGMT [25], RassFI [26], RARb [27], FHIT [28], Hcadherin [29], entre outros. Têm sido relatados novos ensaios quantitativos para detectar a metilação de tumores, tal como análises de expectoração e amostras de sangue. No que respeita às análises de soro/plasma, Sozzi et al. detectou a hipermetilação do promotor p¹⁶ em 63% dos tumores e em 55% de amostras de plasma de pacientes cujos tumores tinham o promotor de metilação p¹⁶ [30]. No que respeita às análises de expectoração, Belinsky et al. relataram metilação aberrante de p¹⁶ em três de sete pacientes com cancro e em cinco de 26 indivíduos livres de cancro com elevado risco [18]. Estes também relataram metilação aberrante do p¹⁶ e/ou promotor O6-MGMT da expectoração em 100% dos pacientes com carcinoma de células escamosas até 3 anos antes de um diagnóstico clínico [25]. Embora estes métodos prometam possível ajuda no diagnóstico precoce do cancro do pulmão, problemas muito importantes necessitam de ser tratados. Entre estes está a reprodutibilidade dos testes, estudos retrospectivos de caso-controle para demonstrar as relações de risco e estudos prospectivos aleatórios para estabelecer a eficácia como medida de rastreio.

P.A. Bunn, Jr / Cancro do Pulmão 38 (2002) S5-S8

4.3 Expressão da telomerase

Tal como muito bem descrito na análise de revisão de Shay et al., a telomerase é um potencial biomarcador útil, porque é detectada na maioria dos cancros e é raramente expressa pelos tecidos normais. Estudos avaliaram também as componentes essenciais da actividade da telomerase incluindo o hTR - human telomerase RNA, e a transcriptase reversa humana (hTERT - human telomerase reverse transcriptase) [31].

Como indicado no relatório do Dr. Shay, menos de 5% dos tecidos do pulmão mas mais de 80% das amostras de CPNPC e 100% das de SLCL apresentam telomerase. Não está claro no entanto, se a expressão da telomerase na expectoração, no sangue ou na biopsia brônquica seriam úteis no rastreio para estimar o risco ou para avaliar a resposta a uma intervenção. Estudos como este são extremamente importantes no futuro.

4.4 Regulação da expressão genética

O advento da tecnologia para avaliar a expressão de vários milhares de genes ao mesmo tempo leva a que vários grupos estudem os perfis da expressão genética no cancro do pulmão. Os grupos de Michigan, Stanford e Harvard mostraram que a expressão de vários genes agrupa-se extremamente bem com a classificação patológica [32-34]. Os 3 grupos relataram que existem várias subclasses de adenocarcinomas que têm diferentes prognósticos. Adenocarcinomas com expressão genética neuroendócrina tendem a ter um prognóstico menos favorável [34]. Adenocarcinomas com enzimas envolvidas no metabolismo dos eicosanóides estiveram também associados ao prognóstico fraco [33]. Pelo menos 900 genes estão expressos de forma diferente entre os cancros do pulmão e as amostras normais de pulmão e pelo menos 44 têm consistentemente expressão aumentada em níveis 100 vezes ou superiores comparados com um pulmão normal. As proteínas codificadas por muitos destes genes são bem conhecidas. Muitas têm expressão na superfície celular e anticorpos monoclonais que reagem com muitas destas proteínas estão evidentes. Manchas imunohistoquímicas ou análises quantitativas de PCR sugerem que as proteínas normais de genes com expressão aumentada estão presentes em apenas 20% dos casos. Estas proteínas constituem excelentes resultados para testes onde se pode detectar cancros do pulmão precoces na expectoração ou no soro. Tais estudos estão planeados mas nenhum foi divulgado até à data. É provável que estudos de expressão genética em larga escala venham a fornecer novas proteínas para estudo mas que não serão úteis por si só para rastreio ou diagnóstico precoce.

4.5 Proteómica

Os avanços nos métodos automatizados para detectar múltiplas proteínas de células ou fluidos conduziram a estudos para procurar novas proteínas associadas ao cancro do pulmão e às lesões pré-neoplásicas. Vários estudos demonstraram que várias centenas de proteínas podem ser identificadas e quantificadas, diferenciando-se entre as células do cancro do pulmão e as células epiteliais normais [32,35]. A caracterização de cada uma destas proteínas é complexa. Não estão ainda divulgados nenhuns estudos sobre a capacidade desta técnica para detectar proteínas relacionadas com o cancro através dos fluidos corporais ou biopsias, mas estão programados muitos estudos.

5. Conclusões

As técnicas de biologia molecular identificaram muitos genes e proteínas cuja expressão está aumentada ou diminuída nos cancros do pulmão e nas lesões pré-neoplásicas. A expressão e as anomalias no gene ou na proteína podem ser detectadas mais frequentemente nas células cancerosas mas também nas amostras de expectoração e plasma. Estudos sugerem um papel potencial na detecção destas anomalias para o rastreio e/ou detecção precoce. No entanto, o uso clínico destes testes não pode ser recomendado até existirem estudos confirmativos de reprodutibilidade, estudos de caso-controle a demonstrar sensibilidade e especificidade e testes prospectivos bem controlados.

Referências

- [1] Peto R, Lopez AD, Boreham J, Thun M, Heath C, Doll R. Mortality from smoking worldwide. *Br Med Bull* 1996; 52:12-21.
- [2] Jemal A, Thomas A, Murray T, Thun M. Cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2002;52:23-47.
- [3] Saccomanno G, Saunders RP, Archer VE, Auerbach O, Kuschner M, Beckler PA. Cancer of the lung: the cytology of sputum prior to the development of carcinoma. *Acta Cytol* 1965;9:413-23.
- [4] Auerbach O, Hammond EC, Garfinkel L. Changes in bronchial epithelium in relation to cigarette smoking, 1955-1960 vs. 1970-1977. *New Engl J Med* 1979;300:381-5.
- [5] Hirsch FR, Franklin WA, Gazdar AF, Bunn PA, Jr. Early detection of lung cancer: clinical perspectives of recent advances in biology and radiology. *Clin Cancer Res* 2001;7:5-22.
- [6] Melamed MR, Flehinger BJ, Zaman MB, Heelan RT, Parchick WA, Martini N. Screening for lung cancer: results of the Memorial Sloan-Kettering study in New York. *Chest* 1984;86:44-53.
- [7] Fontana RS, Sanderson DR, Woolner LB, Taylor WF, Miller WE, Muhm JR. Lung cancer screening. The Mayo program. *J Occup Med* 1986;28:746-50.

P.A. Bunn, Jr / Cancro do Pulmão 38 (2002) S5_S8

- [8] Tockman MS. Survival and mortality from lung cancer in a screened population: The Johns Hopkins Study. *Chest* 1986;89:324S_5S.
- [9] Marcus PM, Bergstralh EJ, Fagerstrom RM, et al. Lung cancer mortality in the Mayo Lung Project: impact of extended followup. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:1308_16.
- [10] Patz EF, Jr, Goodman PC, Bepler G. Screening for lung cancer. *New Engl J Med* 2000;343:1627_33.
- [11] Nisman B, Lafair J, Heching N, Lyass O, Baras M, Peretz T, et al. Evaluation of tissue polypeptide specific antigen, CYFRA 21-1, and CEA in non-small cell lung carcinoma. *Cancer* 1998;82:1850_9.
- [12] Plebani M, Basso Dm Navaglia F, De Paoli M, Tommasini A, Cipriani A. Clinical evaluation of seven tumour markers in lung cancer diagnosis: can any combination improve the results. *Br J Cancer* 1995;72:170_3.
- [13] Nobels FR, Kwekkeboom DJ, Coopmans W, et al. Chromogranin A as serum marker for neuroendocrine neoplasia: comparison with neuron-specific enolase and the alpha-subunit of glycoprotein hormones. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2622_8.
- [14] Payne PW, Sebo TJ, Doudkine A, et al. Sputum screening by quantitative microscopy: a reexamination of a portion of the National Cancer Institute Cooperative Early Lung Cancer Study. *Mayo Clin Proc* 1997;72:697_704.
- [15] Tockman MS, Gupta PK, Myers JD, et al. Sensitive and specific monoclonal antibody recognition of human lung cancer antigen on preserved sputum cells: a new approach to early lung cancer detection. *J Clin Oncol* 1988;6:1685_93.
- [16] Qiao Y-L, Tockman MS, Li L, et al. A case-cohort study of an early biomarker of lung cancer in a screening cohort of Yunnan tin miners in China. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 1997;6:893_900.
- [17] Sueoka E, Goto Ym Sueoka N, Kai Y, Kozu T, Fujiki H. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein B1 as a new marker of early detection for human lung cancers. *Cancer Res* 1999;59:1404_7.
- [18] Belinsky SA, Nikula KJ, Palmisano WA, et al. Aberrant methylation of p16(INK4a) is an early event in lung cancer and a potential biomarker for early diagnosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:11891_6.
- [19] Esteller M, Hamilton SR, Burger PC, Baylin SB, Herman JG. Inactivation of the DNA repair gene 06-methylguanine-DNA methyltransferase by promotor hypermethylation is a common event in primary human neoplasia. *Cancer Res* 1999;59:793_7.
- [20] Sozzi G, Musso K, Ratcliffe C, Goldstraw P, Pierotti MA, Pastorino U. Detection of microsatellite alterations in plasma DNA of non-small cell lung cancer patients: a prospect for early diagnosis. *Clin Cancer Res* 1999;5:2689_92.
- [21] Mao L, Lee JS, Kurie JM, et al. Clonal genetic alterations in the lungs of current and former smokers. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:857_62.
- [22] Wistuba II, Berry J, Behrens C, et al. Molecular changes in the bronchial epithelium of patients with small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2000;7:2604_10.
- [23] Wistuba II, Behrens C, Mirmani AK, et al. High resolution chromosome 3p allelotyping of human lung cancer and preneoplastic/preinvasive bronchial epithelium reveals multiple, discontinuous sites of 3p allele loss and three regions of frequent breakpoints. *Cancer Res* 2000;60:1949_60.
- [24] Park IW, Wistuba II, Maitra A, et al. Multiple clonal abnormalities in the bronchial epithelium of patients with lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:1863_8.
- [25] PalmisanoWA, Divine KK, Saccomanno G, et al. Predicting lung cancer by detecting aberrant promoter methylation in sputum. *Cancer Res* 2000;60:5954_8.
- [26] Burbee DG, Forgacs E, Zochbauer-Muller S, et al. Epigenetic inactivation of RASSF1A in lung and breast cancers and malignant phenotype suppression. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:691_9.
- [27] Virmani AK, Rathi A, Zochbauer-Muller S, et al. Promoter methylation and silencing of the retinoic acid receptor-beta gene in lung carcinomas. *J Natl Cancer Inst* 2000;93:1303_7.
- [28] Zochbauer-Muller S, Fong KM, Maistra A, et al. 5/CpG island methylation of the FHIT gene is correlated with loss of gene expression in lung and breast cancer. *Cancer Res* 2001;61:3581_5.
- [29] Toyooka KO, Toyooka S, Virmani AK, et al. Loss of expression and aberrant methylation of the CDH13 (H-cadherin) gene in breast and lung carcinomas. *Cancer Res* 2001;61:4556_60.
- [30] Sozzi G, Conte D, Mariani L, et al. Analysis of circulating tumor DNA in plasma at diagnosis and during follow-up of lung cancer patients. *Cancer Res* 2001;61:4675_8.
- [31] Hiyama Km Hiyama E, Ishioka S, Yamakido M, et al. Telomerase activity in small-cell and non-small-cell lung cancers. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:895_902.
- [32] Oh JM, Brichory F, Puravs E, et al. A database of protein expression in lung cancer. *Proteomics* 2001;1:1303_19.
- [33] Garber ME, Troyanskaya OG, Schluens K, et al. Diversity of gene expression in adenocarcinoma of the lung. *PNAS* 2001;98:13784_9.
- [34] Bhattacharjee A, Richards WG, Staunton J, et al. Classification of human lung carcinomas by mRNA expression profiling reveals distinct adenocarcinoma subclasses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:13790_5.
- [35] Brichory F, Beer D, Le Naour F, Giordano T, Hanash S. Proteomics-based identification of protein gene product 9.5 as a tumor antigen that induces a humoral immune response in lung cancer. *Cancer Res* 2001;61:7908_12.

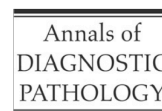
Artigo 2 – Molecular biology: an early detector of oral cancers



Available online at www.sciencedirect.com



Annals of Diagnostic Pathology 13 (2009) 140–145



Review Article

Molecular biology: an early detector of oral cancers

Siddiq M. Ahmed, MD, DNB^a, Mubeen, MDS^b, V.R. Jigna^{b,*}

^aDepartment of General Pathology, Bangalore Medical College and Research Institute, Bangalore, India

^bDepartment of Oral Medicine and Radiology, Government Dental College and Research Institute, Bangalore 560002, India

Abstract

Oral cancers have been one of the leading causes of deaths particularly in the developing countries. Prime reason for this high mortality and morbidity is attributed to the delay in diagnosis and prompt treatment. Relentless research in the field of oncology has led to advent of novel procedures for the early detection of oral cancers. Molecular biology is highly promising in this regard. It is a procedure that detects alterations at a molecular level much before they are seen under a microscope and much before clinical changes occur. Molecular studies serve as basis by which we will eventually be able not only to augment clinical assessment and classification of oral lesions but also predict malignant potential of oral lesions, thus reducing incidence and increasing the scope for early diagnosis and treatment of oral cancers. However, making such sophisticated tools available for the common man in developing countries is one of the most important challenges faced today.
© 2009 Elsevier Inc. All rights reserved.

Keywords:

Oral cancer; Early detection; Molecular biology; Developing countries

1. Introduction

Oral cancer is the sixth most common cancer of both sexes in the general population and the third most common cancer in developing nations. About half of patients afflicted die within 5 years of diagnosis, whereas surviving patients may be left with severe esthetic and functional compromises [1–3]. India has one of the highest incidence of oral cancer in the world [4]. Oral cancer ranks number 1 among men and number 3 among women in India [5].

Such high impact diseases are challenging to diagnose with clinical evaluation and existing laboratory testing. Even with the advent of newer technologies and sophisticated laboratory tools, definitive diagnosis has always been elusive. More than two thirds of oral cancers documented are diagnosed only at an advanced stage. To address this fatal problem, an accurate, qualitative, convenient, and noninvasive diagnostic tool needs to be devised. Molecular biological analysis is one such promising platform that can be used for early detection of oral cancers, their manage-

ment, and thus improve prognosis for the patients. When considering these tools for diagnosis, cost is also a very important factor to be considered, especially in developing nations like India where estimated per capita income is \$275.

Molecular biology is defined as the study of biology at a molecular level. It chiefly concerns itself with understanding the interactions between the various systems of a cell including interactions between DNA, RNA, and protein biosynthesis and learning how these interactions are regulated. Extensive research has been carried out in the field of oncology, and molecular tools have assumed great importance. Because our area of concern is the oral and perioral structures, it is of importance to highlight the molecular analytical tools that have been used and that could be used in future in diagnosis and treatment of oral cancers.

Molecular tools most commonly used are the following:

- Chromosome in situ hybridization
- Cytomorphometry
- Immunohistochemistry
- Polymerase chain reaction
- DNA image cytometry
- DNA microarrays
- Proteomics
- Gene therapy.

* Corresponding author. Tel.: +91 9731333083 (Mobile), +91 080 26932803 (Residence).

E-mail address: jigna_ad@yahoo.com (V.R. Jigna).

1092-9134/\$ – see front matter © 2009 Elsevier Inc. All rights reserved.
doi:10.1016/j.annpath.2008.12.003

2. Chromosome in situ hybridization

Chromosome in situ hybridization (CISH) is a cytogenic technique that is used to detect and localize the presence or absence of specific DNA sequence or chromosome. It uses fluorescent probes that bind to only those parts of the chromosomes with which they show a high degree of sequence similarity. Fluorescence microscopy is used to find out where the fluorescent probe is bound to the chromosome, thus providing an ability to directly visualize the genetic change in tissue sections or exfoliated cells.

In oral cancers, this technique is used to form the diagnosis and evaluate prognosis and remission of the disease. Analyses of normal and premalignant lesions adjacent to tumors have demonstrated that chromosome instability can be detected in the field of the tumor (ie, in normal and premalignant cells in a tissue at 100% risk of tumor development), and the degree of chromosome instability increases with the degree of histologic progression toward cancer. Analyses of premalignant lesions, for example, oral leukoplakia and erythroplakia from individuals at risk for cancers by CISH have uncovered varying degrees of chromosome instability [6]. Studies indicate that most leukoplakia lesions contain an abnormal number of chromosomes 7 and 17, and lesions with greater than 3% proportion of cells with trisomy 9 have a significant higher likelihood of progression to cancer [7,8]. Studies have resulted in detection of new molecular markers like HER-2/neu at the protein level in salivary duct carcinomas (SDCs). Tissue sections from 12 previously diagnosed SDCs were evaluated by immunohistochemistry (IHC) and CISH for HER-2/neu status. A total of 4 SDCs were positive by IHC; all 4 cases showed amplification with CISH. The remaining 8 cases were negative by IHC and showed no gene amplification with CISH. Salivary duct carcinomas in this study show HER-2/neu overexpression on both the protein and gene levels in approximately 30% of cases [9]. Use of CISH technique can prove to be useful as a molecular diagnostic tool for oral cancers, and its relatively lower cost when compared to techniques like microarrays makes it more affordable for the low socioeconomic groups of the society.

3. Cytomorphometry

It is a quantitative technique that evaluates parameters such as nuclear area (NA), cytoplasmic area (CA), and nuclear/cytoplasmic ratio (NA/CA). Papanicolaou smears are prepared, and the NA, CA, and NA/CA are recorded.

In oral cancers, malignant changes are detected through estimation of NA/CA. They typically show a reduction in CA before the reduction in NA. Cytomorphometric techniques are used to assess nuclear diameter and cytoplasmic diameter in dysplastic lesions and oral squamous cell carcinomas. Cytoplasmic diameter was highest in normal mucosa, lower in dysplastic lesions, and lowest in squamous cell carcinomas. By contrast, nuclear diameter was lowest in

normal mucosa, higher in dysplastic lesions, and highest in squamous cell carcinoma. Thus, it suggested that reduced nuclear size and increased cytoplasmic size are useful indications of malignant transformation [10–12]. Cytomorphometric techniques have also been used to assess the effects of smoking crack cocaine on the oral squamous epithelial cells. The study revealed increase in the NA and decrease in the CA and consequent increase in NA/CA, thus concluding that crack cocaine was able to induce significant changes on the oral epithelial cells. Because this illicit drug is normally used in association with other risk factors for oral cancer (tobacco and alcohol), crack cocaine abusers should have frequent preventive oral exams [13].

4. Immunohistochemistry

Immunohistochemistry is a popular technique that has been used as a part of histopathological examination. It can also be used in assessing molecular alterations in premalignant and malignant oral lesions.

p53 mutations are one of the most common events in tumorigenesis of oral cancers [7]. The gene is located at 17p 13.1. It functions as a ‘guardian of cell’ by providing the molecular brake and maintaining the genomic stability. When DNA damage occurs, cell produces p53, which stops cell division by arresting cells at G₁-S boundary, induces DNA repair and triggers programmed cell death or apoptosis. Tumor suppression of p53 is negated by point mutation, deletion of alleles, and binding to viral protein (E6 or E7 of HPV 16/18). Mutant p53 demonstrates a longer half-life than wild type, and its mutant form is often detectable by molecular biology techniques [14]. p53 protein expression has been detected by IHC in 90% of oral leukoplakia, whereas it is absent in normal mucosa [15]. Several studies have demonstrated that p53 detection by IHC alone or with other markers appears to be associated with greater risk for malignant progression [16–22]. Parabasal detection of expression of p53 by IHC has been shown to have a stronger correlation with progression to cancer in several studies [15,23–25], lending credence to the potential application of p53 detection by IHC for stratification of risk of malignant transformation in oral leukoplakia [7,26–29].

The immunohistochemical investigations have also been employed in detection of human papillomavirus (HPV) infection in oral precancerous lesions and oral cancers. The study suggest that HPV type 16/18 has a close association with the development of oral squamous cell carcinoma and that the infection is maintained even after neoplastic change of the infected cells [30].

Immunohistochemistry is widely accessible and easy to perform at a reasonable cost. However, this semiquantitative procedure is beset by technical artifacts, sensitivity differences between different antibodies, and subjective interpretation, resulting in interobserver variability between pathologists.

5. Polymerase chain reaction

Polymerase chain reaction (PCR) is an extremely versatile technique used for copying of DNA. It allows a single DNA sequence to be copied millions of times or altered in a predetermined way. PCR technique is used for quantitative measurements of DNA or RNA molecules. It has also been used to introduce restriction enzymes sites or to mutate particular bases of DNA.

Polymerase chain reaction technique has been used to amplify DNA in samples from oral carcinomas and has been analyzed with restriction fragment length polymorphism. It detects the commonly implicated molecular alterations in oral cancers such as loss of heterozygosity, microsatellite instability, and changes in methylation pattern [12].

The causal link between HPV and a subset of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) cases has also been established in recent years. Human papillomavirus DNA has been identified in approximately 15% to 26% of HNSCC cases. The most commonly detected HPV in HNSCC is HPV-16, which has been demonstrated in 90% to 95% of all HPV positive HNSCC cases, followed by HPV-18 and HPV-33. To identify this, PCR technique has been used [31–35].

Another interesting trend currently being investigated is the use of the PCR to determine if surgical margins obtained at the time of surgery that are histopathologically free of tumor contain a small amount of histologically undetectable tumor cells. Specifically, the use of PCR to detect specific mutations identified in the primary tumor in the histopathologically negative surgical margin could be very useful because these mutations would indicate the presence of residual (histopathologically undetected) tumor cells [36]. It will be very important to establish whether the presence of submicroscopic tumor cells contributes to prognosis and clinical outcome.

Use of versatile techniques like PCR must be made readily available and more affordable to the general population by getting third parties to cover them. These techniques enable the clinicians to identify the pathology at the earliest, thus contributing to the future therapeutic improvements.

6. DNA Image cytometry

DNA image cytometry is a technique that permits quantification of nuclear DNA content, thereby assessing the DNA ploidy status.

Molecular and genetic changes arise during carcinogenesis and could lend themselves to be markers of transformation. Mutations in p53, loss of heterozygosity, and chromosomal polysomy are all associated with progression to carcinoma and may be predictive when used and analyzed in combination [37–40]. Routine use of these techniques is, however, hampered by the complexity of the tests, the lack of facilities in many routine laboratories, and the high cost involved [41,42]. As a surrogate for such individual

molecular markers, measurement of gross genomic damage, in the form of aberrant DNA content, could be a valuable method for prognostication of malignant and premalignant lesions [43–49]. Relatively recently, there has been a major advancement in this area with the use of automated image cytometry to measure ploidy in nuclei extracted from routinely processed paraffin sections. This system may be more sensitive in the evaluation of oral potentially malignant lesions into ‘low’ and ‘high’ risk [50,51].

Evaluation of ploidy status in oral leukoplakia and oral lichen planus allows the identification of gross genomic alterations and has been shown to be a useful tool in identifying lesions with high risk of malignant transformation to oral cancers. Studies show that aneuploid lesions have the maximum incidence of malignant transformation [34,52,53]. DNA image cytometry has also been used to detect cancer cells with abnormal DNA content at the invasive tumor front, which is associated with poor prognosis of the patients with oral carcinomas [54,55]. Thus, it could help to find the appropriate treatment option for the patients. The sensitivity of cytological diagnosis combined with DNA cytometry is 98% and specificity 100% when compared with gold standards of histology [12].

7. DNA microarrays

DNA microarray is a high throughput technology used in molecular biology and helps in the study of sequence of genes. It consists of an arrayed series of thousands of microscopic spots of DNA oligonucleotides, each containing a specific DNA sequence. This is a short section of gene or other DNA element that are used as probes to hybridize DNA or RNA samples. Because an array can contain tens of thousands of probes, a microarray experiment can accomplish many genetic tests in parallel [56,57].

Gene profiling method has been used for comparing the normal and cancerous oral mucosa, and a distinct pattern of gene expression was observed when normal and cancerous cells were compared in genome-wide analysis of oral cancer [58]. Gene profiling by DNA microarrays is capable of identifying up-regulated or down-regulated genes correlated with oral tumor recurrences and lymph node metastasis, thus helping clinician to plan a treatment that prevents recurrence and reduce chances of metastasis [34].

Microarray platforms have to be developed to accomplish the procedures. A number of issues must be addressed before establishing a microarray platform and beginning expression profiling studies, in particular, the overall cost. For a cDNA microarray platform, one must purchase a clone set, robot, printing pins, and reagents needed for DNA amplification and purification. The cost of these materials can vary significantly, but one can expect to need at least \$100 000 to establish such a platform. However, once the process of printing and hybridizing microarrays has been optimized, the cost per experiment will fall dramatically. Thus, one must

decide if the number of planned experiments is enough to warrant the time and cost of establishing a microarray platform. Another challenge is the efficient management and analysis of the large volume of data generated by microarray approaches. However, increasingly sophisticated computational methods continue to be developed that are amenable to large data sets generated from microarray experiments. Certainly, as key disease pathways are identified, custom arrays containing relevant subsets of genes may eventually be integrated into clinical settings for more widespread use [59].

8. Proteomics

The term “proteomics” indicates PROTEIns expressed by a genOME and is the systematic analysis of protein profiles of tissues, paralleling the related field of genomics [57]. The major workhorse of proteomics-based expression profiling is still the combination of high resolution 2-Dgel electrophoresis and mass spectrometry. Laser Capture Microdissection, protein biochips, and isotope-coded affinity tag peptide labeling are among the technologies that are currently having an important impact on cancer research [60]. A new protein analysis system, based on the surface enhanced laser desorption/ionization has been recently applied for the separation, detection, and analysis of multiple proteins in very small amounts (10 ng) of microdissected cancer tissue. This system facilitates protein capture, purification, analysis, and processing from complex biological mixtures directly onto protein chip array surfaces, and the detection of the purified proteins is performed by time-of-flight mass spectrometry [56]. For a better understanding of how patterns of protein expression shape the tissue microenvironment, protein expression in tissue derived by Laser Capture Microdissection from squamous cell carcinoma of the oral cavity was analyzed using a high-throughput antibody microarray approach [61]. A reproducible correlation was found between the expression patterns of multiple proteins within epithelial cells and the progression of oral cavity tumor. A comparison of the protein maps of normal and malignant prostate were used to identify 20 proteins lost in malignant transformation, including PSA, a-1 antichymotrypsin, haptoglobin, and lactylglutathione lyase [62].

Hence, proteomic technologies have the potential to greatly aid the development of molecular diagnostics and serve as markers for the early detection of cancer. These technologies will also accelerate the anticancer drug target discovery and validation. Furthermore, proteomic technologies will be used to design rational drugs according to the molecular profile of the cancer cell and thus facilitate the development of personalized cancer therapy [57].

9. Gene therapy

Gene therapy is a promising new approach for the management of oral cancers. It is the insertion of gene into an

individual's cells and tissues to treat a disease in which a definitive mutant allele is replaced with a functional one. Gene therapy uses an adenovirus vector, which is used to introduce modified DNA into a human cell. If the treatment is successful, the new gene will make a functional protein.

Gene therapy approaches to oral cancers and precancers include the following:

- Addition gene therapy: Aim of approach is to regulate the tumor growth by introducing tumor suppressor gene that inactivates the carcinogenic cells.
- Gene therapy using oncolytic viruses: This approach uses viruses that replicate only in the tumor cells and thus kills them.
- Suicide gene therapy: In this therapy, enzyme encoding gene is introduced into the tumor cell that stimulate the generation of products that are toxic for the cells.
- Immunotherapy: The aim of immunotherapy is to increase the patient's immune response to the tumor.
- Introduction of genes to inhibit tumor angiogenesis: This technique uses microencapsulated cells for the release of therapeutic proteins to encapsulate recombinant cells [63-70].

Use of molecular biology for management of oral cancers is still at its infancy. In the future, it may be the treatment of choice that will overcome all the complications associated with the present trend of management of oral cancers, thus proving to be a blessing to the patients.

10. Conclusion

Molecular analysis is a fast emerging and fascinating technique that can replace the present available diagnostic procedures in the field of oral oncology for early detection of oral cancers, thus saving the patients of physical and mental trauma they go through when oral cancers are detected at an advanced stage. However, practical problems such as affordability of these tests have to be considered when such tools are used for common man living in developing and underdeveloped countries. Governments of such countries in association with organizations like the World Health Organization and the United Nations Educational, Scientific, and Cultural Organization should conduct nationalized health program schemes for regular screening of high-risk patients with molecular analytical tools at subsidized rates so that oral cancers can be detected at the earliest and hence reduce morbidity and mortality in countries like India, where the incidence of oral cancers is high.

References

- [1] Siverman SI. Early diagnosis of oral cancer. *Cancer* 1988;62:1796-9.
- [2] Vokes EE, Weichselbaum RR, Lippman SM, et al. Head and neck cancer (review). *New Eng J Med* 1993;328:184-94.
- [3] Sidransky D. Molecular genetics of head and neck cancer. *Curr Opin Oncol* 1995;7:229-33.

- [4] Hamada GS, Bos AJ, Kasuga H, et al. Comparative epidemiology of oral cancer in Brazil & India. *Tokai J Exp Clin Med* 1991;16(1):63-72.
- [5] Sankaranarayanan R. Oral cancer in India: an epidemiologic and clinical review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990;69:325-30.
- [6] Walter NH, Hyo JK, Jin SL, et al. Detection of chromosome instability of tissue fields at risk: in situ hybridization. *J Cell Biochem* 1997;25S: 57-62.
- [7] Mithani SK, Mydlarz WK, Grumbine FL, et al. Molecular genetics of premalignant oral lesions. *Oral Diseases* 2007;13:126-33.
- [8] Kim J, Yook JJ, Lee EH, et al. Evaluation of premalignant potential in oral lichen planus using interphase cytogenetics. *J Oral Pathol Med* 2001;30(2):65-70.
- [9] Johnson CJ, Barry MB, Vasef MA, et al. HER-2/neu expression in salivary duct carcinoma: an immunohistochemical and chromogenic in situ hybridization study. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2008; 16(1):54-8.
- [10] Ogden GR, Cowpe JG, Chisholm DM, et al. Detection of oral cancer: role of oral exfoliative cytology. Presented at the International Symposium on Cofactor Interactions and Cancer Prevention; Nice, France; March 17-19; in the section on Early Cancer Detection; 1993.
- [11] Mollaouli N, Cowpe JG, Walker R. Cytomorphologic analysis of Papanicolaou stained smears collected from floor of the mouth mucosa in patients with or without oral malignancy. *Turk J Med Sci* 2001;31: 225-8.
- [12] Mehrotra R, Gupta A, Singh M, et al. Application of cytology and molecular biology in diagnosing premalignant or malignant oral lesions. *Mol Cancer* 2006;5:11.
- [13] Woyceichoski IE, de Arruda EP, Resende LG, et al. Cytomorphometric analysis of crack cocaine effects on the oral mucosa. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;105(6):745-9.
- [14] Reibel J. Prognosis of oral pre-malignant lesions: significance of clinical, histopathological, and molecular biological characteristics. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003;14:47-62.
- [15] Lippman SM, Shin DM, Lee JJ, et al. p53 and retinoid chemoprevention of oral carcinogenesis. *Cancer Res* 1995;55:16-9.
- [16] Nishioka H, Hiasa Y, Hayashi I, et al. Immunohistochemical detection of p53 oncoprotein in human oral squamous cell carcinomas and leukoplakias: comparison with proliferating cell nuclear antigen staining and correlation with clinicopathological findings. *Oncology* 1993;50:426-9.
- [17] Kaur J, Srivastava A, Ralhan R. Overexpression of p53 protein in betel- and tobacco-related human oral dysplasia and squamous-cell carcinoma in India. *Int J Cancer* 1994;58:340-5.
- [18] Girod SC, Pape HD, Krueger GR. p53 and PCNA expression in carcinogenesis of the oropharyngeal mucosa. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 1994;30B:419-23.
- [19] Huang XF, Zhang WG, Song LJ, et al. Immunohistochemical detection of PCNA and p53 protein in the premalignant lesions and squamous cell carcinomas of the oral mucosa. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue* 1997; 6:73-4.
- [20] Ries JC, Schreiner D, Steininger H, et al. p53 mutation and detection of p53 protein expression in oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 1998;18:2031-6.
- [21] Scheifele C, Schlechte H, Bethke G, et al. Detection of TP53-mutations in brush biopsies from oral leukoplakias. *Mund Kiefer Gesichtschir* 2002;6:410-4.
- [22] Kovesi G, Szende B. Changes in apoptosis and mitotic index, p53 and Ki67 expression in various types of oral leukoplakia. *Oncology* 2003; 65:331-6.
- [23] Cruz IB, Snijders PJ, Meijer CJ, et al. p53 expression above the basal cell layer in oral mucosa is an early event of malignant transformation and has predictive value for developing oral squamous cell carcinoma. *J Pathol* 1998;184:360-8.
- [24] Cruz I, Napier SS, van der Waal I, et al. Suprabasal p53 immunorexpression is strongly associated with high grade dysplasia and risk for malignant transformation in potentially malignant oral lesions from Northern Ireland. *J Clin Pathol* 2002;55:98-104.
- [25] Cruz I, Snijders PJ, Van Houten V, et al. Specific p53 immunostaining patterns are associated with smoking habits in patients with oral squamous cell carcinomas. *J Clin Pathol* 2002;55:834-40.
- [26] Wong DTW, Todd R, Tsuji T, et al. Molecular biology of human oral cancers. *Crit Rev Oral Biol Med* 1996;7(4):319-28.
- [27] Ibrahim SO, Johannessen AC, Idris AM, et al. immunohistochemical detection of p53 in non-malignant and malignant oral lesions associated with snuff dipping in the Sudan and Sweden. *Int J Cancer* 1996;68:749-53.
- [28] Williams HK. Molecular pathogenesis of oral squamous carcinoma. *Mol Pathol* 2000;53:165-72.
- [29] Fregonesi PAG, Teresa DB, Duarte RA, et al. p16INK4A immunohistochemical overexpression in premalignant and malignant oral lesions infected with human papillomavirus. *J Histochem Cytochem* 2003;51(10):1291-7.
- [30] Miki I, Kazunari S, Masahiro U. Immunohistochemical investigation of the human papilloma virus (HPV) infection type 16/18 in oral precancerous lesions and oral cancer. *Jpn J Cancer Clin* 2002;48(4): 229-35.
- [31] Herrero R, Castellsagué X, Pawlita M, et al. Human papillomavirus and oral cancer: the International Agency for Research on Cancer multicenter study. *J Natl Cancer Inst* 2003;95(23):1772-83.
- [32] Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, et al. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2005;14(2):467-75.
- [33] Syrjänen S. Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. *J Clin Virol* 2005;32S:S59-66.
- [34] Perez-Ordóñez B, Beauchemin M, Jordan RCK. Molecular biology of squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Pathol* 2006;59: 445-53.
- [35] Ribeiro da Silva CEX, Guerreiro da Silva IDC, Cerri A. Prevalence of human papillomavirus in squamous cell carcinoma of the tongue. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;104:497-500.
- [36] Brennan JA, Mao L, Hruban RH, et al. Molecular assessment of histopathological staging in squamous cell carcinoma of head and neck. *N Engl J Med* 1995;332:429-35.
- [37] García-Pola Vallejo MJ, Anitua Roldán MJ, Fernández Álvarez BE, et al. Study comparative of Ki-67 expression in oral lichen planus and oral leukoplakia. *Quant Anal Med Oral* 2001;6:364-70.
- [38] Saiz-Rodríguez A. Molecular basis of oral cancer. *Med Oral* 2001;6: 342-9.
- [39] Burgos JS. Absence of p53 alterations in nasopharyngeal carcinoma Spanish patients with Epstein-Barr virus infection. *Virus Genes* 2003; 27:263-8.
- [40] Sheard MA, Uldrian S, Vojtesek B. Role of p53 in regulating constitutive and X-radiation-inducible CD95 expression and function in carcinoma cells. *Cancer Res* 2003;63:7176-84.
- [41] Zhang C, Zhang P, Sung CJ, et al. Overexpression of p53 is correlated with stromal invasion in extramammary Paget's disease of the vulva. *Hum Pathol* 2003;34:880-5.
- [42] Wang J, Taylor CR. Apoptosis and cell cycle-related genes and proteins in classical Hodgkin lymphoma: application of tissue microarray technique. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2003; 11:206-13.
- [43] Abdel-Salam M, Mayall BH, Hansen LS, et al. Nuclear DNA analysis of oral hyperplasia and dysplasia using image cytometry. *J Oral Pathol Med* 1987;16(9):431-5.
- [44] Sarker SK, Ghufoor K, Patel KS, et al. Nuclear DNA content using computerized image cytometry of squamous cell carcinomas of the head and neck. *J Laryngol Otol* 1997;111:43-7.
- [45] Rihakova P, Brychtova S, Kotrsova L, et al. DNA ploidy correlates with grade, proliferation and clinical outcome but not with presence of human oncogenic HPVs or expression of Bcl-2 in preneoplastic and neoplastic lesions of the uterine cervix. *Neoplasma* 2001;48:274-7.
- [46] Sudbo J, Reith A. Which putatively pre-malignant oral lesions become oral cancers? Clinical relevance of early targeting of high-risk individuals. *J Oral Pathol Med* 2003;32:63-70.

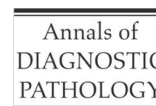
- [47] Remmerbach TW, Weidenbach H, Hemprich A, et al. Earliest detection of oral cancer using non-invasive brush biopsy including DNA-image-cytometry: report on four cases. *Anal Cell Pathol* 2003;25(4):159-66.
- [48] Maraki D, Becker J, Boecking A. Cytologic and DNA-cytometric very early diagnosis of oral cancer. *J Oral Pathol Med* 2004;33:398-404.
- [49] Zafer Özgür P, Ahmet K, Ömer G, et al. Evaluation of nuclear morphometry and DNA ploidy status for detection of malignant and premalignant oral lesions: quantitative cytologic assessment and review of methods for cytomorphometric measurements. *J Oral Maxillofac Surg* 2006;64:628-35.
- [50] VanDiest PJ, Smeulders AW, Thunnissen FB, et al. Cytomorphometry. A methodologic study of preparation techniques, selection methods and sample sizes. *Anal Quant Cytol Histol* 1989;11:225-31.
- [51] Shirata NK, Zerbini MC, Longatto Filho A, et al. DNA ploidy in cervical lesions assessed by computed image analysis: relation to histopathology. *Pathologica* 2003;95:88-91.
- [52] Femiano F, Scully C. DNA cytometry of oral leukoplakia and oral lichen planus. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2005;10:E9-E14.
- [53] Dimitra M, Sebnem Y, Natalia P. Cytologic and DNA-cytometric examination of oral lesions in lichen planus. *J Oral Pathol Med* 2006;35:227-32.
- [54] Noguchi M, Kinjiyo H, Kohama G, et al. Invasive front in oral squamous cell carcinoma: image and flow cytometric analysis with clinicopathologic correlation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002;93:682-7.
- [55] Handschel J, Oz D, Pomjanski N, et al. Additional use of DNA-image cytometry improves the assessment of resection margins. *J Oral Pathol Med* 2007;36(8):472-5.
- [56] Patel V, Leethanakul C, Gutkind JS. New approaches to the understanding of the molecular basis of oral cancer. *Crit Rev Oral Biol Med* 2001;12(1):55-63.
- [57] Nagpala JK, Das BR. Oral cancer: reviewing the present understanding of its molecular mechanism and exploring the future directions for its effective management. *Oral Oncology* 2003;39:213-21.
- [58] Shillitoe EJ, May M, Patel V, et al. Genome-wide analysis of oral cancer—early results from the Cancer Genome Anatomy Project. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 2000;90:340-7.
- [59] Nazmul-Hossain ANM, Patel KJ, Rhodus NL, et al. Microarrays: applications in dental research. *Oral Diseases* 2008;14:25-9.
- [60] Jain KK. Recent advances in oncoproteomics. *Curr Opin Mol Ther* 2002;4(3):203-9.
- [61] Hanash SM. Global profiling of gene expression in cancer using genomics and proteomics. *Curr Opin Mol Ther* 2001;3:538-45.
- [62] Meehan KL, Holland JW, Dawkins HJ. Proteomic analysis of normal and malignant prostate tissue to identify novel proteins lost in cancer. *Prostate* 2002;50:54-63.
- [63] O'Malley BW, Cope KA, Chen S, et al. Combination gene therapy for oral cancer in a murine model. *Cancer Res* 1996;56:1737-41.
- [64] Cusack Jr JC, Tanabe KK. Cancer gene therapy. *Surg Oncol Clin N Am* 1998;7:421-69.
- [65] Gleich LL. Gene therapy for head and neck cancer. *Laryngoscope* 2000;110(5 Pt 1):708-26.
- [66] Fukui T, Hayashi Y, Kagami H, et al. Suicide gene therapy for human oral squamous cell carcinoma cell lines with adeno-associated virus vector. *Oral Oncol* 2001;37:211-5.
- [67] Xi S, Grandis JR. Gene therapy for the treatment of oral squamous cell carcinoma. *J Dent Res* 2003;82(1):11-6.
- [68] Ladeinde AL, Ogunlewe MO, Adeyemo WL, et al. Gene therapy in the management of oral cancer: a review of recent developments. *Niger Postgrad Med J* 2005;12(1):18-22.
- [69] Young M, Overlid N, Konopka K, et al. Gene therapy for oral cancer: efficient delivery of a 'suicide gene' to murine oral cancer cells in physiological milieu. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2008;13(1):E15-21.
- [70] Barbellido SA, Trapero JC, Sánchez JC, et al. Gene therapy in the management of oral cancer: review of the literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2008;13(1):E15-21.

Tradução – Biologia molecular: um detector precoce dos cancros orais

S.M. Ahmed et al. / *Annals of Diagnostic Pathology* 13 (2009) 140–145



Disponível online em www.sciencedirect.com



Annals of Diagnostic Pathology 13 (2009) 140–145

Artigo de Revisão

Biologia Molecular: um detector precoce dos cancros orais

Siddiq M. Ahmed, MD, DNB^a, Mubeen, MDS^b, V.R. Jigna^{b,*}

^a Department of General Pathology, Bangalore Medical College and Research Institute, Bangalore, India

^b Department of Oral Medicine and Radiology, Government Dental College and Research Institute, Bangalore 560002, India

Resumo

Os cancros orais têm sido uma das principais causas de morte, particularmente nos países em desenvolvimento. A principal razão para esta elevada mortalidade e morbilidade é atribuída ao atraso no diagnóstico e tratamento rápido. A investigação insistente no campo da oncologia levou ao aparecimento de novos procedimentos para a detecção precoce dos cancros orais. A biologia molecular é extremamente promissora nestes casos. É um procedimento que detecta alterações a um nível molecular muito antes de poderem ser observadas por um microscópio e muito antes de ocorrerem alterações clínicas. Estudos moleculares servem como base para que eventualmente possa ser possível não só ampliar a avaliação clínica e classificação das lesões orais mas também prever o potencial maligno das mesmas, desta forma reduzindo a incidência e ainda aumentar a amplitude do diagnóstico precoce e tratamento dos cancros orais. No entanto, fazer com que estas ferramentas sofisticadas estejam disponíveis para a pessoa comum nos países em vias de desenvolvimento é um dos desafios mais importantes enfrentados hoje em dia.

Palavras-chave: Cancro Oral; Detecção precoce, Biologia molecular, Países em vias de desenvolvimento.

1. Introdução

O cancro oral é o sexto cancro mais comum nos dois sexos na população geral e o terceiro cancro mais comum nos países em vias de desenvolvimento. Cerca de metade dos pacientes afectados morrem num período de 5 anos após diagnóstico, enquanto os pacientes sobreviventes podem ficar com graves problemas estéticos e funcionais [1–3]. A Índia tem uma das maiores incidências de cancro oral no mundo [4]. O cancro oral ocupa o 1º lugar entre os homens e o 3º entre as mulheres na Índia [5].

Estas doenças de elevado impacto são um desafio para diagnosticar através de avaliação clínica e testes laboratoriais existentes. Mesmo com o aparecimento de novas tecnologias e ferramentas sofisticadas de laboratório, o diagnóstico definitivo tem sido sempre elusivo. Mais de dois terços dos cancros orais documentados são diagnosticados apenas num estado avançado. Para resolver este problema fatal, é necessário desenvolver uma ferramenta de diagnóstico precisa, qualitativa, conveniente e não invasiva. As análises moleculares biológicas são uma plataforma promissora que pode ser usada para a detecção precoce dos cancros orais, para a sua gestão e para melhorar o prognóstico dos pacientes. Ao considerar estas ferramentas para o diagnóstico, o custo é também um importante factor a ser tomado em conta, especialmente nas nações em desenvolvimento como a Índia onde o rendimento per capita estimado é de 275 dólares.

*Autor correspondente. Tel.: +91 9731333083 (Telémovel), +91 080 26932803 (Fixo).
Email: jigna_ad@yahoo.com (V.R. Jigna).
1092-9134/\$ – Consultar tema principal © 2009 Elsevier Inc. Todos os direitos reservados.
doi:10.1016/j.anndiagpath.2008.12.003

S.M. Ahmed et al. /Annals of Diagnostic Pathology 13 (2009) 140-145

A biologia molecular é definida como o estudo da biologia a um nível molecular. Diz principalmente respeito à compreensão das interações entre os diversos sistemas de uma célula incluindo interações entre o ADN, ARN e a síntese proteica e compreender como estas interações são reguladas. Foi levada a cabo uma extensa pesquisa no campo da oncologia e as ferramentas moleculares assumiram uma grande importância. Porque a área de estudo são as estruturas orais e peri-orais, é importante salientar as ferramentas moleculares analíticas que foram usadas e que podem ser usadas, no futuro, no diagnóstico e tratamento dos cânceros orais.

As ferramentas moleculares usadas mais frequentemente são as seguintes:

- Hibridação in situ de cromossomas
- Citomorfometria
- Imunohistoquímica
- Reacção em cadeia da polimerase
- Citometria por imagem do ADN
- Microarranjo de ADN
- Proteómica
- Terapia génica.

2. Hibridação in situ de cromossomas

A hibridação in situ de cromossomas (CISH) é uma técnica citogenética usada para detectar e localizar a presença ou a ausência de uma sequência específica de ADN ou cromossoma. Esta usa sondas fluorescentes que se ligam apenas às partes dos cromossomas com os quais encontram um nível elevado de sequência similar. O microscópio fluorescente é usado para detectar a ligação da sonda fluorescente ao cromossoma, proporcionando assim uma capacidade para visualizar directamente as alterações genéticas nas secções do tecido ou nas células esfoliadas.

Nos cânceros orais, esta técnica é usada para formar diagnósticos e avaliar o prognóstico e remissão da doença. Análises de lesões normais e pré-malignas adjacentes aos tumores demonstraram que a instabilidade cromossómica pode ser detectada no campo do tumor (isto é, nas células normais e pré-malignas num tecido com 100% de risco de desenvolvimento de tumor), e o nível da instabilidade cromossómica aumenta com o nível de progressão histológica em direcção ao cancro. Análises de lesões pré-malignas, por exemplo, leucoplasia oral e eritroplasia de indivíduos com risco de cancro por CISH revelaram vários níveis de instabilidade

cromossómica. [6]. Estudos indicam que a maior parte das lesões leucoplásicas contém um número anormal de cromossomas 7 e 17, e lesões com mais de 3% de proporção de células com trissomia 9 têm uma possibilidade significativamente alta de progressão para cancro [7,8]. Estudos resultaram na detecção de novos marcadores moleculares como HER-2/neu no conteúdo proteico do carcinoma das glândulas salivares (SDCs). As secções do tecido de 12 carcinomas de glândulas salivares previamente diagnosticadas foram avaliadas por imunohistoquímica (IHQ) e CISH para o estado HER-2/neu. Um total de 4 carcinomas de glândulas salivares deram positivo por IHQ; todos os 4 casos mostraram amplificação com CISH. Os restantes 8 casos deram negativo por IHQ e não mostraram amplificação genética com o CISH. Neste estudo os carcinomas das glândulas salivares mostraram uma sobre expressão tanto a nível proteico como do gene em aproximadamente 30% dos casos [9]. O uso da técnica do CISH pode provar ser útil como ferramenta de diagnóstico molecular para os cânceros orais e tem um custo relativamente reduzido, quando comparado com técnicas como o microarranjo, fazendo com que esta seja mais acessível para os estratos sociais mais baixos.

3. Citomorfometria

É uma técnica quantitativa que avalia parâmetros como a área nuclear (AN), área citoplasmática (AC), e a relação nuclear/citoplasmática (AN/AC). O exame do papanicolau está preparado e o AN, AC e AN/AC são registados.

Nos cânceros orais, as alterações malignas são detectadas através da estimativa do AN/AC. Estes mostram tipicamente uma redução na AC antes da redução na AN. As técnicas de citomorfometria são usadas para estimar o diâmetro nuclear e o diâmetro citoplasmático nas lesões displásticas e nos carcinomas de células escamosas orais. O diâmetro citoplasmático foi elevado na mucosa normal, baixo nas lesões displásticas, e mais baixo no carcinoma de células escamosas. Por contraste, o diâmetro nuclear foi mais baixo na mucosa normal, elevado nas lesões displásticas, e mais elevado no carcinoma de células escamosas. Assim, é sugerido que o tamanho nuclear reduzido e o tamanho citoplasmático aumentado são indicações úteis de uma transformação maligna [10-12]. As técnicas citomorfométricas foram também usadas nas células epiteliais escamosas orais para estimar os efeitos de fumar crack. O estudo revelou um aumento na

S.M. Ahmed et al. /Annals of Diagnostic Pathology 13 (2009) 140-145

AN e uma redução na AC e um consequente aumento na AN/AC, concluindo assim que a cocaína é capaz de induzir alterações significativas nas células escamosas epiteliais orais. Devido ao facto desta droga ilícita ser usada normalmente em combinação com outros factores de risco para o cancro oral (tabaco e álcool), os consumidores de cocaína devem efectuar exames orais preventivos frequentemente [13].

4. Imunohistoquímica

A imunohistoquímica é uma técnica popular que foi usada como parte de um exame histopatológico. Pode também ser usada para avaliar alterações moleculares nas lesões orais pré-malignas e malignas.

As mutações p53 são um dos acontecimentos mais comuns na tumorigénese dos cancros orais [7]. O gene está localizado no 17p 13.1. Este funciona como um “guardião da célula” proporcionando um travão molecular e mantendo a estabilidade genómica. Quando ocorre uma lesão no ADN, as células produzem p53, que pára a divisão das células ao reterem as células nos limites G₁ - S, induz a reparação do ADN e activa o programa de morte celular ou apoptose. A supressão tumoral do p53 é negada por mutação pontual, deleção dos alelos, e ligação à proteína viral (E6 ou E7 do HPV 16/18). O p53 mutante demonstra uma semi-vida mais longa que o tipo selvagem, e a sua forma mutante é frequentemente detectável por técnicas de biologia molecular. A expressão proteica p53 foi detectada por IHC em 90% das leucoplasias orais, enquanto está ausente na mucosa normal [15]. Vários estudos demonstraram que a detecção de p53 apenas pelo IHC ou outros marcadores parece estar associado com o elevado risco para progressão maligna [16-22]. A detecção parabasal da expressão do p53 pelo IHC mostrou ter uma correlação mais forte com a progressão para cancro em vários estudos [15, 23-25], dando crédito à aplicabilidade potencial da detecção do p53 por IHC para estratificação do risco da transformação maligna na leucoplasia oral [7,26-29].

As investigações imunohistoquímicas foram também utilizadas na detecção do vírus do papiloma humano (HPV) nas lesões orais pré-cancerígenas e cancros orais. O estudo sugere que o tipo HPV 16/18 tem uma relação próxima com o desenvolvimento do carcinoma de células escamosas orais e que a infecção mantém-se mesmo após mudança neoplásica das células infectadas [30].

A imunohistoquímica é extensamente acessível e fácil de executar a um custo razoável. No entanto, este procedimento semi-quantitativo é cercado de artefactos técnicos, diferenças sensoriais entre os diferentes anticorpos, e interpretação subjectiva, resultando numa variabilidade interobservador entre os patologistas.

5. Reacção em cadeia da polimerase

A reacção em cadeia da polimerase (PCR) é uma técnica extremamente versátil usada para copiar o ADN. Esta permite que uma sequência de ADN seja copiada milhares de vezes ou alterada de um modo predeterminado. A técnica de PCR é usada para medidas quantitativas de ADN ou moléculas de ARN. Foi também usada para introduzir enzimas restritivas ou para alterar bases particulares de ADN.

A técnica da reacção em cadeia da polimerase tem sido usada para amplificar o ADN em amostras dos carcinomas orais e foi analisada com polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição. Este detecta as alterações moleculares mais comuns implicadas nos cancros orais tais como a perda de heterozigotia, instabilidade microssatélite, e alterações no padrão de metilação [12].

A ligação casual entre o PHV e um subconjunto de casos de carcinoma de células escamosas (HNSCC) da cabeça e pescoço foram também estabelecidos nos últimos anos. O ADN do vírus do papiloma humano tem sido identificado em aproximadamente 15% a 26% dos casos no HNSCC. O HPV mais comum detectado no HNSCC é o HPV-16, que foi demonstrado em 90% a 95% de todos os casos positivos de HNSCC, seguido pelo HPV-18 e HPV-33. Para identificar isto, foi usada a técnica do PCR [31-35].

Outra tendência interessante que está a ser actualmente investigada é o uso de PCR para determinar se a margem cirúrgica obtida aquando da cirurgia que é histopatologicamente livre de tumor, contém uma pequena quantidade de células tumorais histologicamente indetectáveis. Em específico, o uso de PCR para detectar alterações específicas identificadas nos tumores primários da margem cirúrgica histopatologicamente negativa pode ser muito útil porque estas alterações vão indicar a presença de células tumorais residuais (histopatologicamente indetectáveis) [36]. Será muito importante estabelecer se a presença de células tumorais submicroscópicas contribuem para o prognóstico e resultado clínico.

O uso de técnicas versáteis como o PCR devem estar imediatamente disponibilizadas e tornadas

mais acessíveis para a população em geral, procurando ajuda de terceiros. Estas técnicas permitem aos clínicos identificar a patologia o mais cedo possível, contribuindo assim para melhorias terapêuticas futuras.

6. Citometria de imagem de ADN

A citometria de imagem é uma técnica que permite a quantificação do conteúdo nuclear do ADN, avaliando assim o estado de ploidia do ADN.

As alterações moleculares e genéticas surgem durante a carcinogénese e podem tornar-se marcadores de transformação. As mutações no p53, a perda de heterozigotia, e a polissomia do cromossoma estão todas associadas com a progressão do carcinoma e podem ser previsíveis quando usadas e analisadas em conjunto [37-40]. O uso rotineiro destas técnicas é, no entanto, impedido pela complexidade dos testes, a falta de condições em vários laboratórios, e o elevado custo envolvido [41,42]. Como substituto para os marcadores moleculares individuais, a medição em bruto do dano genómico, na forma de conteúdo de ADN aberrante, pode ser um valioso método para o prognóstico de lesões malignas e pré-malignas [43-49]. Recentemente, houve um grande avanço nesta área com o uso da citometria de imagem automatizada para medir a ploidia nos núcleos extraídos das secções de parafina processadas de forma rotineira. Este sistema pode ser mais sensível na avaliação do potencial de malignidade das lesões orais, entre “baixo” e “elevado” risco [50,51].

A avaliação do estadió da ploidia na leucoplasia oral e líquen plano oral permite a identificação das alterações genómicas em bruto e provou ser uma ferramenta útil na identificação de lesões com elevado risco de transformação maligna nos cancros orais. Estudos mostram que as lesões aneuploides têm a máxima incidência da transformação maligna [34,52,53]. A citometria de imagem de ADN foi também usada para detectar células cancerígenas com conteúdo anormal de ADN na frente do tumor invasivo, que está associado com fraco prognóstico dos pacientes com carcinomas orais [54,55]. No entanto, isto pode ajudar na busca da opção de tratamento apropriada para os pacientes. A sensibilidade do diagnóstico citológico combinada com a citometria de ADN é de 98% e especificidade de 100% quando comparada com o elevado “padrão de ouro” da histologia [12].

7. Microarranjo de ADN

O microarranjo de ADN é uma tecnologia de elevado rendimento usada na biologia molecular e ajuda no estudo da sequência de genes. Esta consiste numa vasta série de milhares de lugares microscópicos do oligonucleotídeos do ADN, cada um contendo uma sequência específica de ADN. Esta é uma pequena secção do gene ou outro elemento de ADN que é usada como sonda para hibridizar amostras de ADN e ARN. Como uma matriz pode conter dez milhares de sondas, uma experiência de microarranjo pode atingir vários testes genéticos em paralelo [56,57].

O método de perfil genético foi usado para comparar a mucosa oral normal e a cancerosa, e um padrão distinto de expressão genética foi observado quando as células normais e cancerígenas foram comparadas na análise genética do cancro oral [58]. O perfil genético através do microarranjo é capaz de identificar genes regulados positiva ou negativamente correlacionados com as recorrências do tumor oral e a metástase dos gânglios linfáticos, ajudando, assim, os médicos a planejar um tratamento que previna a recorrência e reduza a possibilidade de metástase [34].

Têm que ser desenvolvidas plataformas de microarranjo para realizar os procedimentos. Um conjunto de problemas deve ser considerado antes de estabelecer uma plataforma de microarranjo e iniciar estudos de expressão de perfil, em particular, o custo total. Para uma plataforma de microarranjo de ADNc, esta deve adquirir um conjunto de clones, robots, impressora de agulhas, e reagentes que são necessários para a amplificação e purificação de ADN. O custo destes materiais pode variar significativamente, mas pode custar pelo menos 100 000 dólares para estabelecer tal plataforma. No entanto, assim que o processo de impressão e hibridização do microarranjo tenha sido optimizado, o custo por experiência irá descer dramaticamente. No entanto, alguém deve decidir se o número planeado de experiências é suficiente para garantir o tempo e custo para estabelecer uma plataforma de microarranjo. Outro desafio é a gestão eficiente e análise do grande volume de dados gerados pela aproximação do microarranjo. No entanto, crescentes métodos computacionais sofisticados continuam a ser desenvolvidos o que é notável para a variedade de dados gerados pelas experiências do microarranjo. Certamente, à medida que a trajetória-chave da doença é identificada, os dispositivos de matrizes que contêm subconjuntos relevantes de genes podem eventualmente ser integradas em

S.M. Ahmed et al. /Annals of Diagnostic Pathology 13 (2009) 140-145

conjuntos clínicos para o uso mais alargado [59].

8. Proteómica

O termo “proteómica” indica proteínas expressadas por um genoma e é a análise sistemática dos perfis proteicos, em paralelo com o campo relacionado da genómica [57]. A maior parte do trabalho da expressão-base do perfil da proteómica é ainda a combinação da alta-resolução electroforese 2Dgel e espectrometria de massa. A microdissecção a laser, biochips de proteínas, e marcador por afinidade de codificação isotópica do peptídeo estão entre as tecnologias que têm, neste momento, um impacto importante na pesquisa do cancro [60]. Um novo sistema de análise de proteínas, baseado dessorção/ionização a laser realçada por superfície foi recentemente aplicada para a separação, detecção e análise de múltiplas proteínas em quantidades muito pequenas (10ng) de tecido cancerígeno microdissecado. Este sistema facilita a captura de proteínas, purificação, análise e processamento de misturas biológicas complexas directamente na superfície do arranjo do chip da proteína, e a detecção das proteínas purificadas é realizada pelo tempo de voo de espectrometria de massa [56]. Para um melhor entendimento de como os padrões da expressão proteica moldam o microambiente do tecido, a expressão da proteína no tecido deriva da microdissecção a laser do carcinoma da célula escamosa da cavidade oral que foi analisada usando um equipamento de processamento de abordagem de um microarranjo de anticorpos [61]. Uma correlação reprodutiva foi encontrada entre os padrões de expressão de múltiplas proteínas dentro de células epiteliais e a progressão do tumor da cavidade oral. Uma comparação dos mapas das proteínas de próstatas normais e malignas foram usadas para identificar 20 proteínas perdidas na transformação maligna, incluindo PSA, a-1 antitripsina, haptoglobina, e lactoglobulina liase [62].

Logo, as tecnologias proteómicas têm o potencial de ajudar de forma gigantesca no desenvolvimento do diagnóstico molecular e servir como marcadores para a detecção precoce do cancro.

Estas tecnologias vão também acelerar o alvo da droga anti-cancro, descoberta e validação. Além disso, as tecnologias proteómicas vão ser usadas para desenhar drogas racionais de acordo com o perfil molecular das células cancerígenas e assim facilitar o desenvolvimento de uma terapia personalizada para o cancro [57].

9. Terapia génica

A terapia génica é uma nova abordagem promissora para a gestão dos cancros orais. É a inserção do gene na célula de um indivíduo e nos tecidos para tratar uma doença na qual um alelo mutante definitivo é substituído por um funcional. A terapia génica usa um vector de adenovírus, o qual é usado para introduzir ADN modificado numa célula humana. Se o tratamento for bem-sucedido, o novo gene irá produzir uma proteína funcional.

A terapia génica aborda os cancros orais e os pré-cancros incluindo os seguintes:

- Terapia génica aditiva: a finalidade da abordagem é regular o crescimento do tumor ao introduzir o gene supressor tumoral que inactiva as células carcinogénicas.
- Terapia génica usando vírus oncolíticos: Esta abordagem usa vírus que se replicam apenas nas células do tumor: desta forma, matando-as.
- Terapia génica suicida: Nesta terapia, a enzima codificada pelo gene é introduzida na célula do tumor que estimula a geração de produtos que são tóxicos para as células.
- Imunoterapia: O objectivo da imunoterapia é aumentar a resposta imune do paciente ao tumor.
- Introdução de genes para inibir a angiogénese tumoral: Esta técnica usa células microencapsuladas para a libertação das proteínas terapêuticas para encapsular células recombinantes [63-70].

O uso da biologia molecular para a gestão dos cancros orais está ainda no início. No futuro, pode ser o tratamento de escolha que irá atenuar todas as complicações associadas com a tendência presente de gestão dos cancros orais, provando assim ser uma vantagem para os pacientes.

10. Conclusão

A análise molecular é uma técnica rapidamente emergente e fascinante que pode substituir os actuais procedimentos de diagnóstico disponíveis no campo da oncologia oral para a detecção precoce dos cancros orais, e assim poupar os pacientes do trauma físico e psicológico por que passam quando os cancros orais são detectados já num estado avançado.

No entanto, os problemas práticos, tais como a acessibilidade destes testes, têm que ser considerados, quando tais ferramentas são usadas no homem comum que vive nos países em vias de desenvolvimento e subdesenvolvidos. Os governos destes países, em associação com organizações tais como a Organização Mundial de Saúde e Organização

S.M. Ahmed et al. /Annals of Diagnostic Pathology 13 (2009) 140-145

das Nações Unidas para a Educação, Ciência e Cultura, devem por em prática um programa de saúde para o rastreio regular dos pacientes com elevado risco com ferramentas moleculares analíticas, com taxas subsidiadas, para que os cânceres orais possam ser detectados o mais cedo possível e assim reduzir a morbilidade e mortalidade em países como a Índia, onde a taxa de cânceres orais é elevada.

Referências

- [1] Silverman SI. Early diagnosis of oral cancer. *Cancer* 1988;62:1796-9.
- [2] Vokes EE, Weichselbaum RR, Lippman SM, et al. Head and neck cancer (review). *New Eng J Med* 1993;328:184-94.
- [3] Sidransky D. Molecular genetics of head and neck cancer. *Curr Opin Oncol* 1995;7:229-33.
- [4] Hamada GS, Bos AJ, Kasuga H, et al. Comparative epidemiology of oral cancer in Brazil & India. *Tokai J Exp Clin Med* 1991;16(1):63-72.
- [5] Sankaranarayanan R. Oral cancer in India: an epidemiologic and clinical review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990;69:325-30.
- [6] Walter NH, Hyo JK, Jin SL, et al. Detection of chromosome instability of tissue fields at risk: in situ hybridization. *J Cell Biochem* 1997;25S: 57-62.
- [7] Mithani SK, Mydlarz WK, Grumbine FL, et al. Molecular genetics of premalignant oral lesions. *Oral Diseases* 2007;13:126-33.
- [8] Kim J, Yook JJ, Lee EH, et al. Evaluation of premalignant potential in oral lichen planus using interphase cytogenetics. *J Oral Pathol Med* 2001;30(2):65-70.
- [9] Johnson CJ, Barry MB, Vasef MA, et al. HER-2/neu expression in salivary duct carcinoma: an immunohistochemical and chromogenic in situ hybridization study. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2008; 16(1):54-8.
- [10] Ogden GR, Cowpe JG, Chisholm DM, et al. Detection of oral cancer: role of oral exfoliative cytology. Presented at the International Symposium on Cofactor Interactions and Cancer Prevention; Nice, France; March 17-19; in the section on Early Cancer Detection; 1993.
- [11] Mollaouli N, Cowpe JG, Walker R. Cytomorphologic analysis of Papanicolaou stained smears collected from floor of the mouth mucosa in patients with or without oral malignancy. *Turk J Med Sci* 2001;31: 225-8.
- [12] Mehrotra R, Gupta A, Singh M, et al. Application of cytology and molecular biology in diagnosing premalignant or malignant oral lesions. *Mol Cancer* 2006;5:11.
- [13] Woyceichoski IE, de Arruda EP, Resende LG, et al. Cytomorphometric analysis of crack cocaine effects on the oral mucosa. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;105(6):745-9.
- [14] Reibel J. Prognosis of oral pre-malignant lesions: significance of clinical, histopathological, and molecular biological characteristics. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003;14:47-62.
- [15] Lippman SM, Shin DM, Lee JJ, et al. p53 and retinoid chemoprevention of oral carcinogenesis. *Cancer Res* 1995;55:16-9.
- [16] Nishioka H, Hiasa Y, Hayashi I, et al. Immunohistochemical detection of p53 oncoprotein in human oral squamous cell carcinomas and leukoplakias: comparison with proliferating cell nuclear antigen staining and correlation with clinicopathological findings. *Oncology* 1993;50:426-9.
- [17] Kaur J, Srivastava A, Ralhan R. Overexpression of p53 protein in betel- and tobacco-related human oral dysplasia and squamous-cell carcinoma in India. *Int J Cancer* 1994;58:340-5.
- [18] Girod SC, Pape HD, Krueger GR. p53 and PCNA expression in carcinogenesis of the oropharyngeal mucosa. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 1994;30B:419-23.
- [19] Huang XF, Zhang WG, Song LJ, et al. Immunohistochemical detection of PCNA and p53 protein in the premalignant lesions and squamous cell carcinomas of the oral mucosa. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue* 1997; 6:73-4.
- [20] Ries JC, Schreiner D, Steininger H, et al. p53 mutation and detection of p53 protein expression in oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 1998;18:2031-6.
- [21] Scheifele C, Schlechte H, Bethke G, et al. Detection of TP53-mutations in brush biopsies from oral leukoplakias. *Mund Kiefer Gesichtschir* 2002;6:410-4.
- [22] Kovesi G, Szende B. Changes in apoptosis and mitotic index, p53 and Ki67 expression in various types of oral leukoplakia. *Oncology* 2003; 65:331-6.
- [23] Cruz IB, Snijders PJ, Meijer CJ, et al. p53 expression above the basal cell layer in oral mucosa is an early event of malignant transformation and has predictive value for developing oral squamous cell carcinoma. *J Pathol* 1998;184:360-8.
- [24] Cruz I, Napier SS, van der Waal I, et al. Suprabasal p53 immunoreexpression is strongly associated with high grade dysplasia and risk for malignant transformation in potentially malignant oral lesions from Northern Ireland. *J Clin Pathol* 2002;55:98-104.
- [25] Cruz I, Snijders PJ, Van Houten V, et al. Specific p53 immunostaining patterns are associated with smoking habits in patients with oral squamous cell carcinomas. *J Clin Pathol* 2002;55:834-40.
- [26] Wong DTW, Todd R, Tsuji T, et al. Molecular biology of human oral cancers. *Crit Rev Oral Biol Med* 1996;7(4):319-28.
- [27] Ibrahim SO, Johannessen AC, Idris AM, et al. Immunohistochemical detection of p53 in non-malignant and malignant oral lesions associated with snuff dipping in the Sudan and Sweden. *Int J Cancer* 1996;68:749-53.
- [28] Williams HK. Molecular pathogenesis of oral squamous carcinoma. *Mol Pathol* 2000;53:165-72.
- [29] Fregonesi PAG, Teresa DB, Duarte RA, et al. p16INK4A immunohistochemical overexpression in premalignant and malignant oral lesions infected with human papillomavirus. *J Histochem Cytochem* 2003;51(10):1291-7.

S.M. Ahmed et al. /Annals of Diagnostic Pathology 13 (2009) 140-145

- [30] Miki I, Kazunari S, Masahiro U. papilloma virus (HPV) infection type 16/18 in oral Immunohistochemical investigation of the human precancerous lesions and oral cancer. *Jpn J Cancer Clin* 2002;48(4): 229-35.
- [31] Herrero R, Castellsagué X, Pawlita M, et al. Human papillomavirus and oral cancer: the International Agency for Research on Cancer multicenter study. *J Natl Cancer Inst* 2003;95(23):1772-83.
- [32] Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, et al. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2005;14(2):467-75.
- [33] Syrjänen S. Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. *J Clin Virol* 2005;32S:S59-66.
- [34] Perez-Ordóñez B, Beauchemin M, Jordan RCK. Molecular biology of squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Pathol* 2006;59: 445-53.
- [35] Ribeiro da Silva CEX, Guerreiro da Silva IDC, Cerri A. Prevalence of human papillomavirus in squamous cell carcinoma of the tongue. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;104:497-500.
- [36] Brennan JA, Mao L, Hruban RH, et al. Molecular assessment of histopathological staging in squamous cell carcinoma of head and neck. *N Eng J Med* 1995;332:429-35.
- [37] García-Pola Vallejo MJ, Anitua Roldán MJ, Fernández Álvarez BE, et al. Study comparative of Ki-67 expression in oral lichen planus and oral leukoplakia. *Quant Anal Med Oral* 2001;6:364-70.
- [38] Saiz-Rodríguez A. Molecular basis of oral cancer. *Med Oral* 2001;6: 342-9.
- [39] Burgos JS. Absence of p53 alterations in nasopharyngeal carcinoma Spanish patients with Epstein-Barr virus infection. *Virus Genes* 2003; 27:263-8.
- [40] Sheard MA, Uldrijan S, Vojtesek B. Role of p53 in regulating constitutive and X-radiation-inducible CD95 expression and function in carcinoma cells. *Cancer Res* 2003;63:7176-84.
- [41] Zhang C, Zhang P, Sung CJ, et al. Overexpression of p53 is correlated with stromal invasion in extramammary Paget's disease of the vulva. *Hum Pathol* 2003;34:880-5.
- [42] Wang J, Taylor CR. Apoptosis and cell cycle-related genes and proteins in classical Hodgkin lymphoma: application of tissue microarray technique. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2003; 11:206-13.
- [43] Abdel-Salam M, Mayall BH, Hansen LS, et al. Nuclear DNA analysis of oral hyperplasia and dysplasia using image cytometry. *J Oral Pathol Med* 1987;16(9):431-5.
- [44] Sarker SK, Ghufoor K, Patel KS, et al. Nuclear DNA content using computerized image cytometry of squamous cell carcinomas of the head and neck. *J Laryngol Otol* 1997;111:43-7.
- [45] Rihakova P, Brychtova S, Kotrsova L, et al. DNA ploidy correlates with grade, proliferation and clinical outcome but not with presence of human oncogenic HPVs or expression of Bcl-2 in preneoplastic and neoplastic lesions of the uterine cervix. *Neoplasma* 2001;48:274-7.
- [46] Sudbo J, Reith A. Which putatively pre-malignant oral lesions become oral cancers? Clinical relevance of early targeting of high-risk individuals. *J Oral Pathol Med* 2003;32:63-70.

Anexo 3 – The interface between molecular biology and cancer research

Mutation Research 462 (2000) 423–428

www.elsevier.com/locate/reviewsmrCommunity address: www.elsevier.com/locate/mutres

The interface between molecular biology and cancer research

John Cairns *

Clinical Trial Service Unit, Harkness Building, The Radcliffe Infirmary, Oxford OX2 6HE, UK

Abstract

During the last thirty years, cancer research has been a remarkably fruitful resource for molecular biologists. Numerous fundamental discoveries in basic biology have come out of research into the properties of cancer cells; for example, the discovery of reverse transcriptase, RNA splicing and the protein kinases. Recently, information has started to flow in the other direction, and we are at last beginning to see molecular biology yielding discoveries of practical importance in the management and control of human cancer. Some of the past and possible future interactions of molecular biology and cancer research are discussed in this paper. © 2000 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Keywords: Molecular biology; Carcinogenesis; Susceptibility; Models

1. Introduction

When molecular biologists began to move into cancer research, many of them felt that they would uncover some simple common denominator for all cancers which would lead to successful forms of treatment or prevention. Perhaps most cancers would prove to be due to viruses; perhaps cancer could be prevented by protecting us against chemical mutagens, which perhaps could either be blamed on industry or (less happily) might prove to be natural components of the things we eat; perhaps most forms of cancer were due to some particular defect in cellular control mechanisms that might make cancer cells uniquely sensitive to some magic bullet (exactly in the way that certain peculiarities of bacterial cells make them uniquely susceptible to fungal an-

tibiotics); perhaps each of us is uniquely susceptible to certain forms of cancer and not to others and, with the aid of molecular biology, we might, one day, be able to learn in advance what is our own particular polymorphism so that we can adjust our lifestyle accordingly. So far, however, few of those hopes have been fulfilled.

The optimism of molecular biologists was understandable. Their discipline had been conspicuously successful in giving us a simple route to an understanding of biological mechanisms. In the 1930s and 40s, biochemistry was mainly concerned with catabolic pathways, and this was coupled with the tacit belief that it would never be possible to find out how cells managed their affairs and put those pathways to use. The science of genetics was, in its own way, equally unsatisfactory; its practitioners had to live in a world of abstractions because there seemed to be no prospect that the physical counterparts of these abstractions would ever be understood.

* Corresponding author. Tel.: +44-1993-868-706; E-mail: j.cairns@ctu.ox.ac.uk

Molecular biology changed all that. For a time, biology became one-dimensional; all living creatures spoke the same language and managed their affairs in the same way, and everything seemed likely to have a simple explanation. So it was natural to assume that a disease like cancer was simple and would prove to be due to some particular defect due to some particular cause or circumstance of the human condition.

The rise of molecular biology had been so spectacular partly because of the previous failure of different disciplines to listen to one another. Geneticists and biochemists had little in common, save that both were somewhat scornful of medicine. This isolationism had left unoccupied the space between genetics and biochemistry and was why, for example, the "one gene, one enzyme" hypothesis, first put forward independently by Cuénot and Garrod, had to languish, forgotten for a third of a century.

A similar cultural isolationism has affected cancer research. For example, President Nixon's "War against Cancer" started in 1970 with the report of a Senatorial Committee (the Yarborough Committee) [1]. The committee was made up of numerous clinicians plus one molecular biologist, but it did not contain a single epidemiologist. In consequence, far too little effort has been devoted to the opportunities for the prevention of cancer, and too much emphasis and publicity has been given to the evolving drama of the various forms of cytotoxic chemotherapy.

A simple calculation will show how unrealistic was the balance. Most forms of human cancer cannot be cured by chemotherapy. So the fact that it must now cost more than a quarter of a million dollars to treat a child with cancer [2] does not represent an impossible burden for an affluent industrialized nation because childhood cancers amount to only about 1% of all cancers. But consider what would have happened if that kind of high technology could cure every form of cancer. The total cost each year would amount to more than 5% of the GNP of the richest country in the world and would, of course, be an even greater burden for less affluent nations. In contrast, the expense of most forms of prevention is trivial. For example, almost a third of the deaths from cancer in the United States would be prevented if the population stopped smoking, and the main cost of that would be an increase in the expense of Social

Security due to the consequent increase in life expectancy; (the cost of compensating the tobacco growers would be orders of magnitude less).

Fortunately, the early, unrealistic phase in the War against Cancer is drawing to a close. The findings of clinical trials are being more widely disseminated with the result that cancer patients are now less likely to be given dangerous, inappropriate forms of treatment. More effort is going into the search for the rate-determining causes of the major cancers and into the means for intercepting these causes. Methods are becoming available that can identify people with an inherited susceptibility to cancer, so that they can take appropriate evasive action. And, for the long term, research into the biology of cancer continues to become increasingly sophisticated, so that there are still some grounds for hoping that, in the end, some magic bullet may be found that will control and down-regulate at least some forms of cancer. Much of this progress would have been impossible without the development of molecular biology and its associated technology. The different forms of its contribution can be illustrated with a few examples.

2. Viruses and the prevention of cancer

Probably the biggest contribution of molecular biology to the cancer problem has been in helping to establish hepatitis B virus (HBV) as a major cause of liver cancer and human papilloma viruses (HPVs) as the major cause of cervical cancer. HBV was discovered accidentally, as "Australia antigen", but the role of certain HPVs as the crucial cause of cervical cancer could not have been discovered without the technologies developed by molecular biologists for detecting the presence and location of unique sequences.

Thanks to modern technology, especially the use of genetic engineering to produce large quantities of specific viral proteins, a program for immunization against HBV has been started, and is already proving to be both successful [3] and inexpensive [4], and a similar exercise will surely be started against HPVs in the fairly near future. Since cancer of the liver and the cervix are responsible for roughly 10% of all cancer deaths in the world [6], there is the opportunity here for a practicable and inexpensive exercise

in preventive medicine on a worldwide scale. It will, however, require a considerable investment by the richer nations. These two forms of cancer — and perhaps most of the cancers due to viruses — are commonest in the poorest nations of the world, and it is unlikely in the foreseeable future that these poorest nations will reach a level of affluence that would make mass immunization a more worthwhile form of public expenditure than, for example, increased expenditure on education.

Closer to home and perhaps just as attractive a subject for research are those shadowy infections that are thought by epidemiologists to be responsible for the childhood leukemias that become commoner when the children of rural communities are exposed to children from cities [7]. Here too, it seems just a matter of time before these viruses are identified.

What remains to be determined is whether viruses are important in the genesis of other common cancers. The recent discovery that a previously undescribed bacterium is an important cause of stomach cancer shows how easy it is to miss the infective nature of a disease.

3. Chemical mutagens and the prevention of cancer

At one time, it was reasonable to think that the cancer problem could be at least partly solved by identifying, and then removing, the main mutagens in our environment. For a while, the idea seemed even more plausible because the molecular biologists showed that cancer cells do indeed contain the kind of changes in DNA sequence that can be caused by chemical mutagens. Over the years, an enormous effort has been made to identify the main mutagens and carcinogens to be found among the various natural and made-made chemicals to which we are exposed. Unfortunately, some of the people who have carried out these tests have campaigned with such enthusiasm for this simple view of the cause of cancer that it has become a popular belief that most cancers can be attributed to each patient's past exposure to some unnatural product of modern industry.

If epidemiologists had played a larger part in the design of the War against Cancer, this view would not have gained such wide currency. One of the conspicuous features of the epidemiology of cancer

is that the various more affluent nations of the world have remarkably similar incidence and mortality for the various common cancers, irrespective of their degree of industrialization. Iceland and New Zealand, for example, have just about the same spectrum of cancers as the United States and the European Union [5], even though their industry and sources of income are very different. Plainly, the main determinant of cancer rates in the rich nations of the world must be certain features of the lifestyle that come with affluence, rather than the exact source of income that generates that affluence.

There are, however, several strange features of chemical carcinogenesis that deserve comment. Every one of the chemicals (or mixtures of chemicals) that are known to be important causes of cancer was discovered by epidemiologists, not by those who test compounds for carcinogenicity. Furthermore, few if any of these substances could have been singled out as a major hazard as the result of any of the standard tests for carcinogenicity; for example, inhaled cigarette smoke is not carcinogenic for rodents and is a feeble mutagen (although it is highly toxic), and asbestos (at present, the next most important carcinogen in the industrialized world) would not have been picked up in any ordinary test. Conversely, carcinogenicity tests suggested that two chemicals (phenobarbital and isoniazid) should be classified as major human hazards [8], whereas their actual use (involving months' or years' exposure at near lethal doses) has shown that they are not measurably carcinogenic for humans [9,10]. Lastly, it is clear that loss of nucleotide excision repair (the main pathway for removing nucleotides damaged by mutagens) has really no effect on the incidence of any of the common cancers of humans [11,12] or of mice [13]; the main effect of such a defect is, significantly, on UV-induced skin cancer and mutagen-induced liver cancer — which, as it happens, are the two most clear-cut instances where the sequence changes found in cancer cells are characteristic of the mutagen already implicated as the cause of the cancer. Plainly, something is wrong with the conventional view of most forms of carcinogenesis.

Because it is now established beyond all reasonable doubt that carcinogenesis does involve changes in the sequence of various regulatory genes, we seem to be left with just two possibilities. Either the rate of

creation of changes in sequence (mutation rate) is not rate-limiting, or it is much more influenced by other factors (such as the rate of cell multiplication or death) than by the level of exposure to external carcinogens.

4. The mechanisms that protect against cancer

At this point it becomes worth considering how long-lived organisms protect themselves against the emergence of deregulated clones of proliferating cells. Each of us represents a collection of about 10^{13} cells. But, for most of us, over a period of almost 100 years, not one of these cells will acquire the ability to start multiplying uncontrolledly and form a cancer capable of unlimited growth.

Some of the protective devices are well understood. First and foremost is the fact that DNA is double-stranded; that makes it possible to have various pathways for DNA repair that replace damaged bases and repair false base-pairs. The importance of these pathways is shown by the high incidence of certain types of cancer in people with defective repair; for example, the high incidence of skin cancer when there is a defect in short-patch repair, and the high incidence of colon cancer caused by certain defects in mismatch repair. But the conspicuous feature of these inherited susceptibilities is, in each case, the extremely limited spectrum of cancers that results. It seems that only certain types of cell are strongly dependent on each particular pathway of repair, either because they are exposed to one particular class of mutagen (e.g., the exposure of skin of ultraviolet light) or perhaps because they are, for some reason, able to operate only a limited set of the available pathways for repair.

Other programs act as a kind of backup to repair. The most conspicuous of these are programmed cell death and programmed senescence, which sets a limit on the number of divisions that somatic cells can undergo; for example, it may be thanks to the latter program that the many little cancers of the prostate, found in old men, are limited in their ability to grow.

Perhaps the biggest protection is simply that several changes are apparently required if a cell is to give rise to a cancer. This need for multiple events was first suggested many years ago, as a way of

explaining the exponential increase in cancer incidence with age [14,15]. Experimental verification came later with the demonstration that three changes were needed to transform a line of mouse cells — a point mutation in *ras*, a rearrangement of *myc*, and disruption of programmed senescence [16].

The need for multiple changes creates the opportunity for another important form of protection. The gene products involved in such changes are, as one might expect, concerned with global forms of regulation affecting the functioning of multiple pathways within the cell (e.g., mutations in check-point genes such as *p53*). Many of these interactions occur via smaller signal substances, which can pass from cell to cell through connections such as gap junctions. In this way each cell can, to some extent, make up for defects in its neighbours. So it is significant that cancer cells have usually lost the ability to form gap junctions with each other and with their normal neighbours [17]. This idea, that cells prevent each other from forming cancers, was one of the early explanations, originally offered by epidemiologists, for the steep rise in cancer incidence with age [18]; for, if sequence changes are distributed randomly among the target cells, and if the formation of a cancer requires that the founder cell and its (n) unrelated neighbours have to have the same (carcinogenic) defect in common, cancer incidence should increase as the $(n + 1)$ power of age. The need for like-minded neighbours is the obvious explanation for the recent finding that when cell lines are cloned (i.e., are allowed to form colonies descended from single cells) there is a great increase in the rate of "spontaneous" transformation [19].

5. Mutation and cancer

Because most common cancers do not seem to be due to exposure to the mutagens in our environment, we should provisionally assume that the sequence changes found in cancer cells are the result of some spontaneous process. Until recently, the conventional view of spontaneous mutation was that it is due to errors of replication that occur predominantly when cells are multiplying. Lately, however, it has become apparent that the accumulation of some kinds of mutation occurs mainly in non-multiplying cells and is more dependent on the passage of time than on

cell division [20–23]; this is especially true for the multiple mutations that arise in the minority of any population of cells that are hypermutators [24–26].

So we can see emerging here a rather different view of carcinogenesis. Somatic cells may steadily accumulate more and more mutations as time goes on; indeed, they might accumulate mutations faster when they are not growing if the various repair processes are less active when cells are in G-zero. If multiple mutations are needed in order to free a cell completely from the major restraints on its behaviour, the rate of accumulation of these multiple changes would depend crucially on a small fraction of cells that, for one reason or another, are hypermutators. But the expression of these changes may require that, following the accumulation of the requisite set of mutations, there should be enough cell proliferation to ensure that the multiply-mutant cell becomes totally surrounded by its siblings and is therefore no longer being restrained by signals from normal neighbours.

There is, as far as I know, nothing against a model of this kind. Interestingly, it puts the emphasis less on levels of mutagenesis during the early stages of carcinogenesis and more on subsequent periods of cell proliferation. And it may be mainly in the latter stages that factors such as diet and hormones play a crucial role. The model is necessarily somewhat insubstantial, because we know so little about the factors that determine the rate of accumulation of sequence changes in somatic cells in animals. Also, we know even less about selection and evolution, and the waxing and waning, of populations of epithelial cells. No doubt, in time, molecular biology will provide markers that allow such things to be monitored in situ. So far, only a few classes of mutant (e.g., cells with changes in p53) [27] have been monitored.

6. The genetics of susceptibility

Our apparent indifference to most of the mutagenic chemicals in our environment suggests that the past exposure of humans to mutagens may have been much higher than it is today; when food is rate-limiting, you eat whatever you can find and disregard the moulds. Only in the last 200 years or so has human

life expectancy reached much beyond the years of reproduction, and so there has been little or no selection for resistance to whatever causes the cancers of old age. We might therefore expect to find occasional rare alleles in the population that confer unusual resistance (or sensitivity) to one or more types of cancer.

In human populations, the most dramatic of these extreme sensitivities are the inherited susceptibilities to breast and to colon cancers. The genes involved have now been identified, and we can look forward to day when such families can be rescued by genetic manipulation (gene therapy). No doubt numerous less conspicuous alleles are awaiting discovery [J. Peto and T. Mack; to be published].

Much harder to detect, and potentially more exciting, would be alleles that confer resistance. There are, in fact, some grounds for hoping that resistance alleles may be lurking among the multitude of human polymorphisms. In the days when carcinogenicity testing was in its infancy and mice were being subjected to selective breeding for sensitivity to carcinogens, a sensitive strain (SENCAR) was readily isolated. For some reason the successful, second half of that experiment (to create a more resistant strain, RESCAR) received much less attention.

It is hard to imagine how the existence of such an allele could be detected by studying the records of human families; the statistical problems would be virtually insurmountable. But it is imaginable, since mice and men are almost indistinguishable in their genetic constitution, that human resistance alleles could be discovered by way of a study of mice. And, if we had to guess the function of such genes, we might imagine that their gene products could determine the degree of stability of the program for cell renewal in epithelia. For it is that stability, as mentioned earlier, that seems likely to be the main barrier to the uncontrolled proliferation of multiply-mutant cancer cells. This could, in the end, prove to be a notable, and no doubt profitable, contribution for molecular biology to make to the prevention of human cancers.

Acknowledgements

I wish to thank the organisers of this volume for allowing me to contribute. For many years, Ruggero

Montesano has watched over me — during the six months I spent at the Agency, during the many years I served on his Fellowship Selection Committee, and finally on the numerous occasions when he took me venturing on skis into areas that were spectacular and well beyond my level of competence.

References

- [1] National Program for the Conquest of Cancer. Report of the National Panel of Consultants on the Conquest of Cancer, US Government Printing Office, Washington, DC, 1970.
- [2] B.S. Bloom, The epidemiology of disease expenses. The costs of caring for children with cancer, *J. Amer. Med. Assoc.* 253 (1985) 2393–2397.
- [3] S. Viviani, A. Jack, A.J. Hall, N. Maine, M. Mendy, R. Montesano, H.C. Whittle, Hepatitis B vaccination in infancy in The Gambia: protection against carriage at 9 years of age, *Vaccine* (1999) 1–5.
- [4] A.J. Hall, R.L. Robertson, P.E. Crivelli, Y. Lowe, H. Inskip, S.K. Snow, H. Whittle, Cost-effectiveness of hepatitis B vaccine in The Gambia, *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 87 (1993) 333–336.
- [5] D.M. Parkin, S.L. Whelan, J. Ferlay, L. Raymond, J. Young, Cancer Incidence in Five Continents, IARC Scientific Publications No. 143 (1997) Lyon, France.
- [6] D.M. Parkin, E. Läärä, C.S. Muir, Estimates of the worldwide frequency of sixteen major cancers in 1980, *Int. J. Cancer* 41 (1988) 184–197.
- [7] L.J. Kinlen, Evidence of an infectious cause of childhood leukaemia, *Lancet* ii (1988) 1323–1327.
- [8] B.N. Ames, R. Magaw, L.S. Gold, Ranking possible carcinogenic hazards, *Science* (1987) 271–280.
- [9] J. Clemmesen, S. Hjalgrim-Jensen, On the absence of carcinogenicity to man of phenobarbital, *Acta Path. Microbiol. Scand. (Suppl.)* 261 (1977) 38–50.
- [10] J.D. Jensen, J. Clemmesen, K. Sundaram, Isoniazid — An attempt at retrospective prediction, *Mutat. Res.* 76 (1990) 85–112.
- [11] J. Cairns, The origin of human cancers, *Nature* 289 (1981) 353–357.
- [12] K.H. Kraemer, M.-M. Lee, A.D. Andrews, W.C. Lambert, The Role of Sunlight and DNA Repair in Melanoma and Nonmelanoma Skin Cancer, *Arch. Dermatol.* 130 (1994) 1018–1021.
- [13] D.L. Cheo, D.K. Burns, L.B. Meira, J.F. Houle, E.C. Friedberg, Mutational Inactivation of the Xeroderma Pigmentosum Group C Gene Confers Predisposition to 2-Acetylaminofluorene-induced Liver and Lung Cancer and to Spontaneous Testicular Cancer in *Trp53*^{-/-} Mice, *Cancer Res.* 59 (1999) 771–775.
- [14] D.R. Charles, E.M. Luce-Clausen, The kinetics of papilloma formation in benzpyrene-treated mice, *Cancer. Res.* 2 (1942) 261–263.
- [15] C.O. Nordling, A new theory on the cancer-inducing mechanism, *Brit. J. Cancer* 7 (1953) 68–72.
- [16] H. Land, L.F. Parada, R.A. Weinberg, Tumorigenic conversion of primary embryo fibroblasts requires at least two cooperating oncogenes, *Nature* 304 (1983) 596–602.
- [17] Y. Kanno, Y. Matsui, Cellular uncoupling in cancerous stomach epithelium, *Nature* 218 (1968) 775–776.
- [18] J.C. Fisher, J.H. Hollomon, A hypothesis for the origin of cancer foci, *Cancer* 4 (1951) 916–918.
- [19] M. Chow, H. Rubin, The destabilizing role of clonal isolation in neoplastic development, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96 (1999) 6976–6981.
- [20] F.J. Ryan, D. Nakada, M.J. Schneider, Is DNA replication a necessary condition for spontaneous mutation?, *Z. Vererbungsl.* 92 (1961) 38–41.
- [21] J.A. Shapiro, Observations on the formation of clones containing *araB-lacZ* cistron fusions, *Mol. Gen. Genet.* 194 (1984) 79–90.
- [22] J. Cairns, P.L. Foster, Adaptive reversion of a frameshift mutation in *Escherichia coli*, *Genetics* 128 (1991) 695–701.
- [23] B.G. Hall, Adaptive evolution that requires multiple spontaneous mutations: mutations involving base substitutions, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88 (1991) 5882–5886.
- [24] J. Torkelson, R.S. Harris, M.-J. Lombardo, J. Nagendran, C. Thulin, S.M. Rosenberg, Genome-wide hypermutation in a subpopulation of stationary-phase cells underlies recombination-dependent adaptive mutation, *EMBO J* 16 (1997) 3303–3311.
- [25] W.A. Rosche, P.L. Foster, The role of transient hypermutators in adaptive mutation in *Escherichia coli*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96 (1999) 6862–6867.
- [26] J. Bachl, M. Dessing, C. Olsson, R.C. von Borstel, C. Steinberg, An experimental solution for the Luria-Delbrück fluctuation problem in measuring hypermutation rates, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96 (1999) 6847–6849.
- [27] F. Pontén, C. Berg, A. Ahmadian, Z. Ren, M. Nistér, J. Lundeberg, M. Uhlén, J. Pontén, Molecular pathology in basal cell cancer with p53 as a genetic marker, *Oncogene* 15 (1997) 1059–1067.

Tradução – A interface entre a biologia molecular e a investigação do cancro

Mutation Research 462_2000, 423–428

www.elsevier.com/locate/reviewsmr
Community address: www.elsevier.com/locatertermutres

A interface entre a biologia molecular e a investigação do cancro

John Cairns*

Clinical Trial Service Unit, Harkness Building, The Radcliffe Infirmary, Oxford OX2 6HE, UK

Resumo

Durante os últimos 30 anos, a investigação do cancro tem sido um recurso notavelmente produtivo para os biólogos moleculares. Numerosas descobertas fundamentais na biologia básica saíram da investigação para as propriedades das células cancerígenas; por exemplo, a descoberta da transcriptase reversa, ARN *splicing* e cinase de proteínas. Recentemente, a informação começou a fluir noutra direcção, e estamos finalmente a começar a ver as descobertas rentáveis da biologia molecular, de importância prática na gestão e controlo do cancro humano. Algumas das interacções passadas e possivelmente futuras da biologia molecular e a investigação do cancro estão discutidas neste artigo. ©2000 Elsevier Science B.V. Todos os direitos reservados.

Palavras-chave: Biologia Molecular, Carcinogénese, Susceptibilidade, Modelos.

1. Introdução

Quando os biólogos moleculares começaram a movimentar-se na investigação do cancro, muitos deles sentiram que iriam descobrir um simples denominador comum para todos os cancros que levaria a formas eficazes de tratamento e prevenção. Provavelmente a maioria dos cancros iria provar ser devido a um vírus, talvez o cancro possa ser prevenido ao proteger-nos contra os mutagénicos, que talvez possam ser causadas pela indústria ou (menos feliz) pode revelar-se ser os componentes naturais das coisas que comemos; talvez a maior parte das formas do cancro são devidas a algumas falhas nos mecanismos de controlo celular que pode tornar as células cancerígenas unicamente sensíveis a uma bala mágica (exactamente no sentido de que determinadas peculiaridades das células bacterianas as tornam unicamente susceptíveis a antibióticos anti-fúngicos); talvez cada um de nós seja susceptível unicamente a determinadas formas de cancro e não a outras e, com a ajuda da biologia molecular, podemos, um dia, estar preparados para aprender

antecipadamente o que é o nosso próprio polimorfismo para que possamos ajustar de acordo o nosso estilo. Até agora, no entanto, poucas destas esperanças foram satisfeitas.

O optimismo dos biólogos moleculares foi compreensível. A sua disciplina foi manifestamente bem-sucedida ao dar-nos um simples percurso para um entendimento dos mecanismos biológicos. Nos anos 30 e 40, a bioquímica estava principalmente preocupada com as vias catabólicas, e isto foi acoplado com a crença tácita de que nunca seria possível descobrir como as células conduziam as suas ligações e punham aquelas vias em uso. A ciência genética foi, no seu próprio sentido, igualmente insatisfatória; os seus médicos tinham de viver num mundo de abstracções porque parecia não haver nenhuma perspectiva de que as contrapartidas físicas destas abstracções iriam alguma vez ser entendidas.

*Autor correspondente. Tel.: 044-1993-868-706; E-mail: j.cairns@ctu.ox.ac.uk

1383-5742/00/\$ - consultar tema principal © 2000 Elsevier Science B.V. Todos os direitos reservados.
PII: S1383-5742-00-00030-2

A biologia molecular mudou isso tudo. Durante algum tempo a biologia tornou-se unidimensional; todas as criaturas vivas falavam a mesma língua e conduziam as suas ligações da mesma forma, e tudo parecia ter uma explicação simples. Então, era natural assumir que uma doença como o cancro era simples e iria provar ser devido a uma falha particular, a uma causa particular ou a circunstâncias da condição humana.

A ascensão da biologia molecular tornou-se tão espectacular, em parte, devido à falha das diferentes disciplinas em ouvir as outras. Geneticistas e bioquímicos têm pouco em comum, salvo que ambos estavam de certa forma orgulhosos da medicina. Este isolamento deixou disponível o espaço entre a genética e a bioquímica e foi devido, por exemplo, à hipótese “um gene, uma enzima” - primeiro apresentada independentemente por Cuénot e Garrod - que foi enfraquecida e esquecida durante um terço de século.

Um isolamento cultural similar afectou a investigação do cancro. Por exemplo, “A Guerra contra o cancro” do Presidente Nixon começou em 1970 com o relato de um Comité Senatorial (Comité de Yarborough) [1]. O comité era constituído por numerosos clínicos juntamente com um biólogo molecular, mas não tinha um único epidemiologista. Em consequência, poucos esforços foram dedicados às oportunidades para a prevenção do cancro, e foi dada demasiada ênfase e publicidade ao drama emergente das várias formas de quimioterapia citotóxica. Um simples cálculo irá mostrar o quão irrealista era o balanço. A maioria das formas do cancro não pode ser curada por quimioterapia.

Então, presentemente o facto disto custar mais de um quarto de um milhão de dólares para

tratar uma criança com cancro [2], não representa um encargo impossível para uma nação industrializada porque os cancros infantis perfazem apenas 1% de todos os cancros. Mas considere o que poderia ter acontecido se esse tipo de elevada tecnologia pudesse curar todas as formas de cancro. Por exemplo, quase um terço das mortes por cancro nos Estados Unidos poderá ser prevenido se a população parar de fumar, e o principal custo disso seria um aumento nas despesas da Segurança Social devido ao consequente aumento da esperança de vida; (o custo de compensar os produtores de tabaco seria sinal de menos amplitude).

Felizmente, a fase irrealista inicial na Guerra contra o Cancro está a chegar a um desfecho. As descobertas dos ensaios clínicos estão a ser largamente disseminadas com o resultado de que os pacientes com cancro estão agora mais susceptíveis a formas de tratamento perigosas e inapropriadas. Mais esforços estão a ser canalizados para a taxa de determinação das causas dos principais cancros e para meios para interceptar estas causas. Estão a tornar-se disponíveis métodos que podem identificar pessoas com uma susceptibilidade hereditária para o cancro, para que estas possam ter uma acção evasiva apropriada. E, a longo prazo, a investigação na biologia do cancro continua a tornar-se altamente sofisticada, por isso existe ainda esperança que, no final, uma bala mágica possa ser encontrada para controlar e regular pelo menos algumas formas de cancro. Grande parte deste progresso não teria sido possível sem o desenvolvimento da biologia molecular e a tecnologia a ela associada. As suas diferentes formas de contribuição podem ser ilustradas com alguns exemplos.

2. Vírus e a prevenção do cancro

Provavelmente a maior contribuição da biologia molecular para o problema do cancro foi a ajuda para estabelecer o vírus da hepatite B (HBV) como a principal causa do cancro do fígado e o vírus do papiloma humano (HPV) como a causa principal do cancro cervical. O HBV foi descoberto acidentalmente como o “Antigénio Australiano”, mas o papel de alguns HPVs como causa crucial do cancro cervical não foi descoberto sem tecnologias desenvolvidas por biólogos moleculares para detectar a presença e posição de sequências únicas.

Graças à tecnologia moderna, especialmente o uso da engenharia genética para produzir grandes quantidades de proteínas virais específicas, foi iniciado um programa para a imunização contra o HBV, que está já a provar ser duplamente bem-sucedido [3] e barato [4], e um exercício similar irá certamente ser iniciado contra o HPV num futuro razoavelmente próximo. Uma vez que o cancro do fígado e o cancro cervical são responsáveis por aproximadamente 10% de todas as mortes por cancro no mundo [6], aí está a oportunidade para um exercício praticável e barato na medicina preventiva a uma escala mundial. Irá, no entanto, requerer um investimento considerável pelos países mais ricos. Estas duas formas de cancro - e talvez a maioria dos cancros devidos a vírus - são mais comuns nas nações mais pobres do mundo, e é pouco provável que num futuro previsível estas nações atinjam um nível de riqueza que irá tornar a imunização em massa uma forma de despesa pública mais digna que, por exemplo, despesas aumentadas na educação. Mais perto da origem e provavelmente tão atractiva como um assunto para investigação são as infecções indistintas que são pensadas pelos epidemiologistas ser as responsáveis pelas leucemias infantis que se

tornaram mais comuns quando crianças de comunidades rurais são expostas a crianças da cidade [7]. Aqui também, parece apenas uma questão de tempo antes que estes vírus sejam identificados.

O que continua por ser determinado é se os vírus são importantes na génese de outros cancros comuns. A recente descoberta de que uma bactéria não descrita previamente é uma importante causa do cancro do estômago demonstra o quão fácil é perder a natureza infecciosa de uma doença.

3. As mutações químicas e a prevenção do cancro

A um certo ponto, será razoável pensar que o problema do cancro pode ser pelo menos parcialmente resolvido ao identificar, e em seguida remover, as principais mutações no nosso ambiente. Durante um tempo, a ideia pareceu ainda mais plausível porque os biólogos moleculares provaram que as células cancerígenas contêm transformações similares na sequência do ADN que podem ser usadas pelos mutagénios. Ao longo dos anos, tem sido feito um enorme esforço para identificar os principais mutagénios e carcinomas que podem estar entre os mais variados químicos criados e naturais aos quais estamos expostos. Infelizmente, algumas das pessoas que conduziram estes testes fizeram campanha para esta simples visão da causa do cancro com tal entusiasmo que se tornou numa crença popular que a maioria dos cancros pode ser atribuída à exposição anterior de cada paciente a produtos artificiais da indústria moderna.

Se os epidemiologistas tivessem tido um papel maior no plano Guerra contra o Cancro, esta visão não teria ganho tanto dinheiro. Uma das características conspicuas da epidemiologia do cancro é que as nações mais ricas do mundo têm uma incidência e mortalidade notavelmente similar para os cancros mais comuns, independentemente do seu grau de industrialização. A Islândia e a Nova Zelândia, por exemplo, têm quase o mesmo espectro de cancros que os Estados Unidos e a União Europeia [5], embora a sua indústria e fontes de rendimento sejam muito diferentes. Obviamente, o factor determinante das taxas de cancro nas nações mais ricas do mundo são provavelmente certas características do estilo de vida que vem com a riqueza, em vez da fonte exacta de rendimento que gera essa riqueza. Existe, no entanto, várias características estranhas da carcinogénese química que merecem atenção. Cada um dos químicos (ou misturas de químicos) que são conhecidos como importantes causas do cancro foram descobertos pelos epidemiologistas, e não pelos que testaram compostos para a carcinogenicidade. No entanto, poucas ou, se alguma destas substâncias poderá ter sido escolhida como o maior perigo como resultado de qualquer um dos testes estandardizados para a carcinogenicidade, por exemplo, inalar fumo do cigarro não é carcinogénico para roedores e o seu mutagénio enfraquecido (embora seja altamente tóxico), e amianto (actualmente, o próximo carcinoma mais importante no mundo industrializado) não foi escolhido num teste comum. Inversamente, os testes de carcinogenicidade sugeriram que dois químicos

(fenobarbital e isoniazida) devem ser classificadas como os maiores perigos humanos [8], enquanto o seu actual uso (envolvendo meses ou anos de exposição a doses letais) mostrou que não são medíveis a nível carcinogénico para os humanos [9,10]. Por último, está claro que a perda do reparo por excisão do nucleótido (a principal via para remover os nucleótidos danificados pelos mutagénios) não teve nenhum efeito na incidência de qualquer um dos cancros humanos comuns [11,12] ou dos ratos [13]; o principal efeito de tal falha é, significativamente, no cancro da pele induzido pelos raios UV e cancro do fígado induzido pelo mutagénio - que, à medida que acontece, são as duas instâncias mais bem definidas onde as mudanças da sequência encontradas nas células cancerígenas são característica do mutagénio já implicado como causa do cancro. Obviamente, algo está errado com a visão convencional da maior parte das formas de carcinogénese.

Está agora estabelecida, para além de toda a dúvida, que a carcinogénese envolve mudanças na sequência de vários genes reguladores, e assim somos deixados com apenas duas possibilidades. Ou a taxa de criação de mudanças na sequência (taxa de mutação) é ilimitada ou é muito mais influenciada por outros factores (tais como a taxa da multiplicação de células ou morte) que pelo nível de exposição a carcinogénicos externos.

4. Mecanismos que protegem contra o cancro

Nesta altura vale a pena considerar como é que os organismos de longa-vida se protegem a si mesmos contra a emergência dos clones desregulados das células proliferadas. Cada um de nós, representa uma colecção de cerca de 10^{13} células. Mas, para a maior parte de nós, depois de um período de quase 100 anos, nenhuma destas células irá adquirir a capacidade para se começar a multiplicar incontrolavelmente e formar um cancro capaz de crescer de uma forma ilimitada.

Alguns dos aparelhos de protecção são bem entendidos. Primeiro e principalmente está o facto de que o ADN é uma cadeia dupla; isto faz com que seja possível ter várias vias para a reparação do ADN que substitui as bases danificadas e repara pares de bases falsos. A importância destas vias é mostrada pela elevada incidência de certos tipos de cancro em pessoas com reparação defeituosa, por exemplo, a elevada incidência do cancro da pele quando existe uma falha na reparação de uma pequena parte, e a elevada incidência do cancro do cólon causado por certas falhas na reparação de um emparelhamento de bases. Mas a característica conspicua destas susceptibilidades hereditárias

é, em cada caso, o espectro extremamente limitado dos cancros que resultam. Parece que apenas certos tipos de células são fortemente dependentes em cada via particular da reparação, ou porque estão expostas a uma classe particular de mutagénio (isto é, a exposição da pele à luz ultravioleta) ou talvez porque são, por alguma razão, capazes de operar apenas um conjunto limitado de vias disponíveis para a reparação.

Outros programas agem como um género de cópia de segurança para a reparação. Os mais distintos destes são a morte celular programada e senescência programada, que estabelece um limite no número de divisões que as células somáticas podem sofrer; por exemplo, pode ser graças ao último programa que os vários cancros pequenos da próstata, encontrados em homens idosos, estão limitados, na sua capacidade de crescer.

Provavelmente a maior protecção é simplesmente as várias mudanças que são aparentemente exigidas se uma célula está para gerar um cancro. Esta necessidade para múltiplos eventos foi inicialmente sugerida há vários anos atrás, como forma de explicar o aumento exponencial na incidência do cancro com idade [14,15]. A verificação experimental apareceu mais tarde com a demonstração de que três mudanças eram necessárias para transformar uma linha de células de rato - um ponto de mutação de ras uma reestruturação de myc, e a rotura da senescência programada [16]. A necessidade para múltiplas mudanças cria a oportunidade para outras formas de protecção importantes. Os produtos genéticos envolvidos em tais mudanças são, como se pode esperar, preocupados com as formas globais de regulação afectando o funcionamento de várias vias dentro da célula (por exemplo, mutações nos genes de pontos de controlo tais como o p53). Muitas destas interações ocorrem através de substâncias de sinal reduzido, que podem passar de célula em célula para ligações como junções de hiato. Neste caminho cada célula pode, numa certa dimensão, reparar falhas nos seus vizinhos. É então importante que as células cancerígenas tenham usualmente perdido a sua capacidade para formar junções de hiato com outras e com os seus vizinhos normais [17]. Esta ideia, de que as células se previnem de formar cancros, foi uma das explicações precoces avançadas originalmente pelos epidemiologistas, para a íngreme ascensão da incidência do cancro com a idade [18]; se as mudanças da sequência são distribuídas aleatoriamente entre as células alvo, e se a formação do cancro requer que a célula fundadora e os seus (n) vizinhos independentes têm que ter o mesmo defeito (carginogénico)

em comum, a incidência do cancro deve aumentar com o (n+1) poder da idade. A necessidade para vizinhos em acordo é a explicação óbvia para as recentes descobertas de que quando as linhas celulares são clonadas (isto é, estão permitidas a formar colónias descendentes de células únicas) existe um grande aumento na taxa de transformação “espontânea” [19].

5. Mutação e cancro

Porque a maioria dos cancros comuns não aparentam ser devido à exposição aos mutagénios no nosso ambiente, devemos assumir provisoriamente que as mudanças de sequência encontradas nas células cancerígenas são resultado de um processo espontâneo. Até recentemente, a visão convencional da mutação espontânea era que esta era devido a erros de replicação que ocorrem predominantemente quando as células se estão a multiplicar. Mais tarde, no entanto, tornou-se aparente que a acumulação de alguns tipos de mutação ocorrem principalmente nas células que não se multiplicam e é mais dependente na passagem do tempo que na divisão celular [20-23]; isto é especialmente verdade para as múltiplas mutações que surgem na minoria das células de qualquer população que são hipermutantes [24-26].

Podemos observar aqui uma visão um pouco diferente da carcinogénese a emergir. As células somáticas podem acumular regularmente mais e mais mutações à medida que o tempo passa; de facto estas podem acumular mutações mais rapidamente quando não estão a crescer se os vários processos de reparação estão menos activos quando as células estão em G-zero. Se múltiplas mutações são necessárias para libertar completamente uma célula das maiores limitações no seu comportamento, a taxa de acumulação destas múltiplas mudanças irá depender crucialmente de uma pequena fracção de células que, por uma razão ou outra, são hipermutantes. Mas a expressão destas mudanças podem requerer que, seguindo a acumulação do requisito dos conjuntos de mutações, deve existir proliferação celular suficiente para assegurar que as células mutantes se multiplicam e fiquem totalmente cercadas pelos seus semelhantes e não estão mais a ser restringidas por sinais dos seus vizinhos normais.

Não existe, tanto quanto sei, nada contra um modelo deste tipo. Curiosamente, este dá menos ênfase nos níveis de mutagénese durante os estados iniciais da carcinogénese e mais nos períodos subsequentes da proliferação celular. E pode ser principalmente nos estados mais avançados que factores tais como a dieta e as

hormonas têm um papel crucial. O modelo é de certa forma insubstancial porque conhecemos muito pouco sobre os factores que determinam a taxa de acumulação das sequências de troca nas células somáticas em animais. Conhecemos ainda menos sobre a selecção e evolução, aumento e diminuição das populações das células epiteliais. Não há dúvida, de que com tempo, a biologia molecular irá fornecer marcadores que permitam que estas coisas sejam monitorizadas in situ. Até agora, apenas umas poucas classes de mutantes (por exemplo, células com mudanças em p53) [27] foram monitorizadas.

6. A genética da susceptibilidade

A nossa aparente indiferença à maioria dos químicos mutagénicos no nosso ambiente sugere que a exposição passada dos humanos a mutagénicos pode ter sido muito mais elevada do que é actualmente; quando a comida é limitada come-se o que se encontra e esquecem-se os moldes. Apenas nos últimos 200 anos a esperança de vida atingiu muito mais os anos de reprodução, e então não há nenhuma ou quase nenhuma selecção para resistência ao que quer que cause o cancro da idade avançada. Podemos no entanto esperar encontrar ocasionalmente alelos raros na população que conferem uma incomum resistência (ou sensibilidade) para um ou mais tipos de cancro.

Nas populações humanas, as mais dramáticas destas extremas sensibilidades são as susceptibilidades hereditárias para o cancro da mama e do cólon. Os genes envolvidos foram agora identificados, e podemos olhar para o futuro e ver quando essas famílias vão ser salvas pela manipulação genética (terapia génica). Não há dúvidas que numerosos alelos menos distintos estão à espera de serem descobertos [J.Peto and T. Mack; a ser publicado].

Muito mais difícil de detectar, e potencialmente mais emocionante serão alelos que conferem resistência. Existem, de facto, alguns caminhos

para a esperança de que os alelos de resistência podem estar escondidos entre a diversidade de polimorfismos humanos. Na época em que os testes de carcinogenicidade estavam no início e os ratos estavam a ser sujeitos a uma criação selectiva para a sensibilidade para os carcinogénicos, uma raça sensível (SENCAR) foi prontamente isolada. Por alguma razão a segunda metade bem-sucedida da experiência (para criar uma raça mais resistente, RESCAR) recebeu muito menos atenção.

É difícil imaginar como a existência de tal alelo possa ser detectado estudando os registos de famílias humanas; os problemas estatísticos podem ser virtualmente intransponíveis. Mas é possível imaginar, já que o rato e o homem são quase indistinguíveis nas suas constituições genéticas, que os alelos de resistência humanos podem ser descobertos pelo estudo de um rato. E se tivéssemos que adivinhar a função de tais genes, poderíamos imaginar que os seus produtos genéticos poderiam determinar o grau de estabilidade do programa para a renovação celular no epitélio. Esta estabilidade, mencionada anteriormente, que parece ser a principal barreira para a proliferação incontrolável das múltiplas células cancerígenas mutantes. Isto pode, no final, provar ser um notável, e sem dúvida vantajoso, contributo para a biologia molecular na prevenção dos cancros humanos.

Agradecimentos

Quero agradecer aos organizadores deste volume por me permitirem contribuir. Durante muitos anos, Ruggero Montesano acompanhou-me - durante os seis meses que passei na agência, durante os vários anos que trabalhei para o seu Comité Institucional de Selecção, e finalmente nas numerosas ocasiões que me incentivou a aventurar-me em áreas que eram impressionantes e estavam para além do meu nível de competência.

Referências

- [1] National Program for the Conquest of Cancer. Report of the National Panel of Consultants on the Conquest of Cancer, US Government Printing Office, Washington, DC, 1970.
- [2] B.S. Bloom, The epidemiology of disease expenses. The costs of caring for children with cancer, *J. Amer. Med. Assoc.* 253 _1985. 2393–2397.
- [3] S. Viviani, A. Jack, A.J. Hall, N. Maine, M. Mendy, R. Montesano, H.C. Whittle, Hepatitis B vaccination in infancy in The Gambia: protection against carriage at 9 years of age, *Vaccine* _1999. 1–5.
- [4] A.J. Hall, R.L. Robertson, P.E. Crivelli, Y. Lowe, H. Inskip, S.K. Snow, H. Whittle, Cost-effectiveness of hepatitis B vaccine in The Gambia, *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 87 _1993. 333–336.
- [5] D.M. Parkin, S.L. Whelan, J. Ferlay, L. Raymond, J. Young, Cancer Incidence in Five Continents, IARC Scientific Publications No. 143 _1997. Lyon, France.
- [6] D.M. Parkin, E. La`a`ra, C.S. Muir, Estimates of the worldwide frequency of sixteen major cancers in 1980, *Int. J. Cancer* 41 _1988. 184–197.
- [7] L.J. Kinlen, Evidence of an infectious cause of childhood leukaemia, *Lancet* ii _1988. 1323–1327.
- [8] B.N. Ames, R. Magaw, L.S. Gold. Ranking possible carcinogenic hazards, *Science* _1987. 271–280.
- [9] J. Clemmesen, S. Hjalgrim-Jensen, On the absence of carcinogenicity to man of phenobarbital, *Acta Path. Microbiol. Scand., Suppl.* 261 _1977. 38–50.
- [10] J.D. Jensen, J. Clemmesen, K. Sundaram, Isoniazid — An attempt at retrospective prediction, *Mutat. Res.* 76 1990.85–112.
- [11] J. Cairns, The origin of human cancers, *Nature* 289 _1981. 353–357.
- [12] K.H. Kraemer, M.-M. Lee, A.D. Andrews, W.C. Lambert, The Role of Sunlight and DNA Repair in Melanoma and Nonmelanoma Skin Cancer, *Arch. Dermatol.* 130 _1994. 1018–1021.
- [13] D.L. Cheo, D.K. Burns, L.B. Meira, J.F. Houle, E.C. Friedberg, Mutational Inactivation of the Xeroderma Pigmentosum Group C Gene Confers Predisposition to 2-Acetylaminofluorene- induced Liver and Lung Cancer and to Spontaneous Testicular Cancer in *Trp53^{hy}* Mice, *Cancer Res.* 59 _1999. 771–775.
- [14] D.R. Charles, E.M. Luce-Clausen, The kinetics of papiloma formation in benzpyrene-treated mice, *Cancer. Res.* 2 _1942. 261–263.
- [15] C.O. Nordling, A new theory on the cancer-inducing mechanism, *Brit. J. Cancer* 7 _1953. 68–72.
- [16] H. Land, L.F. Parada, R.A. Weinberg, Tumorigenic conversion of primary embryo fibroblasts requires at least two cooperating oncogenes, *Nature* 304 _1983. 596–602.
- [17] Y. Kanno, Y. Matsui, Cellular uncoupling in cancerous stomach epithelium, *Nature* 218 _1968. 775–776.
- [18] J.C. Fisher, J.H. Hollomon, A hypothesis for the origin of cancer foci, *Cancer* 4 _1951. 916–918.
- [19] M. Chow, H. Rubin, The destabilizing role of clonal isolation in neoplastic development, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96 _1999. 6976–6981.
- [20] F.J. Ryan, D. Nakada, M.J. Schneider, Is DNA replication a necessary condition for spontaneous mutation?, *Z. Vererbungsl.* 92 _1961. 38–41.
- [21] J.A. Shapiro, Observations on the formation of clones containing *araB-lacZ* cistron fusions, *Mol. Gen. Genet.* 194 _1984. 79–90.
- [22] J. Cairns, P.L. Foster, Adaptive reversion of a frameshift mutation in *Escherichia coli*, *Genetics* 128 _1991. 695–701.
- [23] B.G. Hall, Adaptive evolution that requires multiple spontaneous mutations: mutations involving base substitutions, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88 _1991. 5882–5886.
- [24] J. Torkelson, R.S. Harris, M.-J. Lombardo, J. Nagendran, C. Thulin, S.M. Rosenberg. Genome-wide hypermutation in a subpopulation of stationary-phase cells underlies recombination-dependent adaptive mutation, *EMBO J* 16 _1997. 3303–3311.
- [25] W.A. Rosche, P.L. Foster, The role of transient hypermutators in adaptive mutation in *Escherichia coli*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96 _1999. 6862–6867.
- [26] J. Bacht, M. Dessing, C. Olsson, R.C. von Borstel, C. Steinberg, An experimental solution for the Luria-Delbrück fluctuation problem in measuring hypermutation rates, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96 _1999. 6847–6849.
- [27] F. Ponte`n, C. Berg, A. Ahmadian, Z. Ren, M. Niste`r, J. Lundeberg, M. Uhle`n, J. Ponte`n, Molecular pathology in basal cell cancer with p53 as a genetic marker, *Oncogene* 15 _1997. 1059–1067.